UNIVERSITE D'ALGER
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
Année 1970 - N°

DIAGNOSTIC ET SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DE 65 SOUCHES DE NEISSERIA GONORRHŒAE ISOLÉES A ALGER ENTRE 1969 ET 1970

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement le septembre 1970

par

RAHAL Kheira
née le 12 avril 1943 à Sidi Akkacha
Interne des Hôpitaux

Membres du Jury

MM. F. MARILL	: Professeur de dermatologie et maladies vénériennes	Président
S. SLIMANE-TALEB	: Professeur d'histologie et d'embryologie	Juges
J. GROSSET	: Maître de conférence agrégé (bactériologie)	Juges
O. BOUDJELLAB	: Maître de conférence agrégé (cardiologie)	Juges

UNIVERSITE D'ALGER
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
Année 1970 - N°

DIAGNOSTIC ET SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DE 65 SOUCHES DE NEISSERIA GONORRHŒAE ISOLÉES A ALGER ENTRE 1969 ET 1970

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement le septembre 1970

par

RAHAL Kheira

née le 12 avril 1943 à Sidi Akkacha
Interne des Hôpitaux

Membres du Jury

MM. F. MARILL	: Professeur de dermatologie et maladies vénériennes	Président
S. SLIMANE-TALEB	: Professeur d'histologie et d'embryologie	Juges
J. GROSSET	: Maître de conférence agrégé (bactériologie)	
O. BOUDJELLAB	: Maître de conférence agrégé (cardiologie)	

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et selon la tradition d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

A mes parents

qui furent des guides sûrs et compréhensifs durant toutes mes études.

Qu'ils trouvent dans ce modeste travail la récompense de tout leur dévouement et de leurs sacrifices incessants à mon égard.

A mes soeurs

très affectueusement.

A mon neveu et à ma nièce

A tous les miens.

A Monsieur le Professeur F. MARILL

qui a bien voulu s'intéresser à ce travail et nous fait le très grand honneur de le présider.

Nous le prions de trouver ici l'expression de notre hommage très respectueux.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536512_0043

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur S. SLIMANE-TALEB

dont la bienveillance à notre égard ne s'est jamais affaiblie.

Il nous a suivi avec intérêt et a su éveiller en nous le goût des Sciences Fondamentales.

Qu'il soit assuré de notre vive et respectueuse reconnaissance.

Monsieur le Professeur Agrégé J. GROSSET

qui nous a accueilli dans son équipe et nous a témoigné tant de sollicitude.

Il nous a initié aux problèmes de la Bactériologie et a suscité en nous le goût de la recherche scientifique.

Qu'il soit assuré de notre profond attachement et de notre respectueuse admiration.

Monsieur le Professeur Agrégé O. BOUDJELLAB

Nous le remercions bien vivement de l'amabilité et de la courtoisie qu'il nous a toujours témoigné et de l'honneur qu'il nous fait en acceptant d'être notre juge.

A Monsieur le Docteur M. BENHASSINE,
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur d'Algérie

qui nous a inspiré le sujet de ce travail et nous a guidé dans son élaboration de son expérience et de ses conseils, ne nous ménageant ni son aide ni son temps.

Nous l'assurons ici de notre profonde reconnaissance.

A Monsieur le Docteur R. NEEL,
Directeur de l'Institut Pasteur d'Algérie

qui nous a ouvert les portes de l'Institut Pasteur et nous a toujours témoigné un bienveillant intérêt.

Avec toute notre gratitude.

A tous les collaborateurs et collaboratrices du Service des Analyses de l'Institut Pasteur d'Algérie pour leur aide qui nous a été très précieuse et pour leur gentillesse.

A tous ceux de l'Institut Pasteur d'Algérie qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

A Monsieur le Professeur Agrégé P. CHAULET (Pneumo-phtisiologie),

A Monsieur le Professeur Agrégé B. KHATI (Pédiatrie),

A Monsieur le Professeur Agrégé D. LARBAOUI (Pneumo-phtisiologie),

A Monsieur le Professeur Agrégé M.C. MOSTEFAI (Cardiologie)

qui nous ont toujours manifesté leur sollicitude.

En témoignage de notre reconnaissance et de notre admiration.

A mes conférenciers d'Internat,

- Monsieur le Professeur A.S. BENDALI,
- Monsieur le Docteur M. MAZOUNI,

En témoignage de notre reconnaissance et de notre fidèle amitié.

A tous ceux qui m'ont aidé dans ce travail,

A tous mes amis,

A tous mes collègues.

"La rapidité de propagation de la blennoragie - son "potentiel de propagation" - comparée à celle de la syphilis peut être illustrée par la considération hypothétique de ce qui se produirait - avec une période d'incubation de trois jours pour la blennoragie et de vingt et un pour la syphilis, chaque sujet restant contagieux pendant toute la période étudiée - si chaque sujet infecté transmettait l'infection à un sujet sain sensible tous les trois jours. En commençant avec un sujet infecté pour chaque maladie du jour zéro, il n'y aurait toujours qu'un seul cas de syphilis vingt et un jours plus tard, mais 64 cas de blennoragie. Après soixante trois jours, il y aurait 10 cas de syphilis mais 1 048 576 cas de blennoragie".

Comité OMS d'Experts des infections gonococciques,
n° 262, 1963

R E C T I F I C A T I F

- page 13 :

1e, 2e, 3e lignes

Les boîtes sont testées au préalable en les mettant 18 à 24 heures à l'étuve puis conservées à +4°C pendant 15 à 30 jours.

- page 66 :

5e ligne

Notre travail s'étant limité à un petit nombre de souches (65).

INTRODUCTION

L'apparition de la pénicilline en 1943, a fait naître l'espoir qu'on pourrait éliminer, en tant que problème de Santé publique, les infections dues à Neisseria gonorrhoea, devenues moins sensibles aux sulfamides. De fait, au lendemain de la seconde guerre mondiale, la fréquence de la blennorragie a partout accusé une baisse importante. Malheureusement, ces résultats encourageants ont entraîné un certain relâchement des efforts menés contre cette maladie vénérienne et, par voie de conséquence, une recrudescence sensible. Selon l'OMS (60), 60 à 65 millions de nouveaux cas s'observent chaque année, mais selon une fréquence variable suivant les pays. C'est ainsi qu'entre 1950 et 1960, il a été signalé une augmentation de 85 % de cas en Europe, de 52,4 % en Amérique, de 43,3 % en Asie du Sud-Est et de 33,3 % en Afrique. Cependant, ces statistiques, basées sur les déclarations officielles des gonococcies, ne semblent pas traduire l'exacte situation qui, vraisemblablement, est plus sérieuse. En Afrique, par exemple, le manque de laboratoires est loin de permettre un dépistage systématique précis. Parallèlement à cet accroissement du taux des nouveaux cas de gonococcie, différents auteurs signalent de plus en plus une diminution de la sensibilité des souches de N. gonorrhoeae aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline.

En Algérie, il n'existe aucune statistique officielle qui permette d'évaluer l'importance de cette infection. Les chiffres dont nous avons pu disposer à la clinique de dermatologie du Centre Hospitalier Universitaire d'Alger ou à l'Hôpital interarmes de l'Armée Nationale Populaire, montrent certes entre 1967 et 1969 une recrudescence assez nette des cas (de l'ordre de 100 % environ), mais il ne peut en être tenu compte à défaut d'un examen bactériologique complet et précis.

Il était intéressant de se pencher sur ce problème, non pas pour en apprécier l'étendue, mais pour poser les bases d'une étude plus complète. A cet effet, le but de notre travail consiste à :

- évaluer les procédés de diagnostic actuellement utilisés, à savoir : examen microscopique après colorations et en immunofluorescence, culture et identification

- étudier la sensibilité des souches de Neisseria gonorrhoea isolées à Alger

- essayer enfin de tirer des conclusions pratiques tant du point de vue bactériologique qu'épidémiologique.

HISTORIQUE

Connue depuis la plus haute Antiquité, la "Gonorrhée", terme employé par GALIEN (131-210 ap. J.C.) pour désigner un "écoulement de semence", a été longtemps confondue avec la syphilis. Ce n'est qu'en 1812 qu'HERNANDEZ, inoculant à des forçats du bagne de Toulon des gonorrhées non suivies de syphilis, séparait définitivement les deux affections. L'agent étiologique de la gonorrhée fut mis en évidence en 1879 par NEISSER (d'où le nom de Neisseria Gonorrhoeae) dans un pus urétral et cultivé par LOEFFLER, en 1882, sur gélatine-sérum. BUMM, en 1885, démontre son rôle pathogène en l'inoculant à l'homme (72).

Cependant, le diagnostic bactériologique de l'infection gonococcique n'a commencé à être utilisé qu'à partir de 1934 à la suite des travaux de MAC LEAD et coll. (11). Les différentes étapes : examen microscopique, culture et identification, ont suivi une évolution progressive visant à toujours plus de précision et de rapidité.

L'examen microscopique après coloration de Gram, au bleu de méthylène ou selon la technique de PICK et JACOBSON (79), fut pendant longtemps et est encore souvent la seule méthode utilisée dans les laboratoires. Rapide et facile à interpréter chez l'homme, l'examen direct n'a qu'une valeur limitée chez la femme où il est parfois impossible de distinguer les cocci à gram négatif parmi une flore polymorphe. Selon DEBRAY et LE MINOR (11), ces techniques sont imprécises et ne peuvent servir que pour un diagnostic d'orientation.

Apparemment plus précis est l'examen microscopique par immunofluorescence, introduit dans le diagnostic bactériologique de la gonococcie par DEACON et coll. en 1959 (12). La technique de l'immunofluorescence tire parti du fait que certains colorants exposés aux rayons ultra-violets émettent un rayonnement dans la partie visible du spectre et qu'ils peuvent être conjugués à des immuno-globulines sans détruire la spécificité (c'est-à-dire le siège des réactions) de ces substances. Par conséquent, si l'on met un organisme comme le gonocoque, une cellule ou une autre partie du tissu en contact

avec une solution contenant une globuline conjuguée à la fluoresceine, cette globuline sera liée au micro-organisme ou à la cellule si l'antigène homologue est présent. Si l'on examine alors la préparation au microscope en utilisant un éclairage ultra-violet, l'élément émettra une fluorescence jaune-vert.

Si l'on parvient à rendre cette réaction suffisamment spécifique et sensible, le diagnostic microscopique doit devenir possible même si la préparation ne contient qu'un très petit nombre de micro-organismes ou de cellules. Cette technique peut être employée de deux façons différentes :

a) procédé direct : certains micro-organismes inconnus présents dans un spécimen sont exposés au conjugué fluorescent d'un anticorps connu et leur fluorescence après ce traitement permet de les identifier s'ils contiennent l'antigène homologue de l'anticorps ;

b) procédé indirect : on utilise un micro-organisme connu pour identifier les anticorps contenus dans un sérum humain inconnu.

C'est la technique directe des anticorps fluorescents que l'on emploie pour l'identification du gonocoque. Deux méthodes peuvent être suivies :

a) une méthode directe "immédiate" dans laquelle le frottis est effectué aussitôt le prélèvement fait ;

b) une méthode directe "différée" dans laquelle le frottis est réalisé à partir d'une culture de 16 à 18 heures. Bien que cette technique soit un procédé de coloration, elle repose en fait sur une réaction antigène-anticorps. L'antigène intervenant chez N. gonorrhoea dans cette réaction est un antigène de surface "K" de nature polysaccharidique, présent dans les produits pathologiques et les cultures jeunes (15).

Cependant, l'existence de communautés antigéniques à l'intérieur du genre Neisseria d'une part et le fait que l'on trouve souvent des anticorps anti-Staphylococcus aureus dans le sérum anti-gonococcique de lapin d'autre part, donnent lieu parfois à des réactions non spécifiques (70). C'est pourquoi la culture reste pour beaucoup d'auteurs la méthode de diagnostic bactériologique peut-être la moins rapide, mais la plus fidèle et la plus précise. Elle exige des milieux enrichis qui seuls permettent la culture des Neisseria gonorrhoea. Parmi les milieux classiques nous citerons en particulier le milieu de PEIZER et STEFFEN qui continue à être utilisé dans de nombreux laboratoires en Algérie (28). Depuis 1963, d'autres milieux d'isolement ont été mis au point : milieu de THAYER et MARTIN sans antibiotiques (78), milieu de KELLOG et WHITE ou milieu "CM" (70), milieu d'ALLNER (70), et milieu à l'oeuf de CHACKO et NAIR en 1968 (70). Sur de tels milieux enrichis poussent non seulement N. gonorrhoea mais aussi la plupart, sinon tous les autres germes, ce qui empêche de reconnaître et d'isoler les colonies de N. gonorrhoea masquées par la culture de bactéries saprophytes. Pour supprimer cet inconvénient, des milieux sélectifs permettant la multiplication de N. gonorrhoea et inhibant celle de la flore associée ont été composés. Ce sont d'abord des antiseptiques comme le Bleu de Nil A qui furent ajoutés aux milieux de culture. Toutefois, s'ils se sont avérés plus ou moins efficaces vis à vis de la flore associée, ils entravent quelque peu aussi la croissance de N. gonorrhoea (28).

Les antibiotiques ont remplacé dans les milieux de culture les antiseptiques à la suite de l'observation de CROOKES et STUART (70). Cultivant le gonocoque en présence de polymyxine B, ils constatent que cet antibiotique n'empêchait pas sa multiplication, tout en inhibant celle des autres germes à Gram négatif.

La même année, COURTIEU et coll. (70) préconisent la ristocétine active sur les bactéries à Gram positif.

En 1964, THAYER et MARTIN mettent au point un nouveau milieu de culture enrichi additionné pour le rendre sélectif de polymyxine B et de ristocétine (78), celle-ci allant être ultérieurement retirée du marché et remplacée par la vancomycine. Le milieu actuellement utilisé, le milieu "VCN" (79) est basé sur l'addition à un milieu enrichi d'une association d'antibiotiques composée par les mêmes auteurs en 1966 et contenant de la vancomycine, de la colistine au lieu de la polymyxine B et de la nystatine active sur les levures et d'ailleurs déjà utilisée depuis 1960 dans les milieux sélectifs pour gonocoque au Département des Neisseria du Statens Serum Institut de Copenhague (70). Récemment enfin, POTUZNIK et HAUSNER ont suggéré d'utiliser dans les milieux l'association lincomycine-colimycine (51).

Quelle que soit la valeur du milieu sélectif utilisé, le diagnostic bactériologique précis de N. gonorrhoea doit reposer sur l'étude complète des caractères culturaux et métaboliques du germe isolé. Eventuellement, il sera suivi de l'étude de sa sensibilité aux antibiotiques et aux sulfamides.

De nombreuses études consacrées à ce dernier sujet ont permis d'en suivre l'évolution.

En 1936, quand les sulfamides ont pris la relève des grands lavages de JANET (72) dans le traitement de la gonorrhée, pratiquement toutes les souches de gonocoques y étaient sensibles et la plupart des cas guéris (25). Six années plus tard, la majorité des souches étaient devenues résistantes et la sulfamidothérapie fut un échec dans la majeure partie des cas (25). Introduite en 1943 dans le traitement de la gonococcie en remplacement des sulfamides devenus inefficaces, la pénicilline a laissé entrevoir la possibilité de juguler cette infection. En effet, jusqu'en 1957 on ne trouvait pas de souche résistante à plus de 0,05 UI de pénicilline G par ml. Mais dès 1958, en Angleterre, en France et aux Etats-Unis, divers auteurs ont isolé 15 % de souches plus résistantes que les souches déjà connues (8). En 1959, AMIES, lors d'une enquête effectuée à Toronto (USA), constate

que 3 % des souches isolées sont résistantes à 0,1 UI de pénicilline G par ml ; moins de dix ans plus tard, en 1968, dans la même ville, il isole 30 % de souches de gonocoques résistantes à 0,3 UI/ml (1) tandis qu'à Londres, NICOL en observe 37,3 % résistantes à 0,1 UI/ml (41). En Extrême-Orient, A. REYN constate que 64 % de souches isolées en 1961 étaient résistantes à au moins 0,18 UI de pénicilline G/ml, tandis qu'en 1968, ce pourcentage atteint 90 % (69).

Ainsi, depuis plus de dix ans, on assiste dans le monde à une augmentation progressive de la résistance, mesurée in vitro, de N. gonorrhoea à la pénicilline. Cependant, il est maintenant évident que la diminution de la sensibilité de N. gonorrhoea concerne non seulement la pénicilline, mais encore d'autres antibiotiques.

En France, entre 1958 et 1960, 76,5 % des souches étaient sensibles à 50 µg de streptomycine, au plus, 22,9 % étaient résistantes à 1 000 µg au minimum. En 1961-1962, la proportion de souches résistantes à cette dernière concentration est passée à 35 %. Il existe d'ailleurs une corrélation significative entre les échecs des traitements cliniques et la diminution de la sensibilité du gonocoque à cet antibiotique. En effet, SPITZER et WILLOY (74) ont signalé en 1966 30 % d'échecs thérapeutiques à Londres.

Suivi ou non de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, le diagnostic bactériologique direct, quelque soit le milieu utilisé, n'est pas toujours possible, en particulier dans les cas chroniques. Aussi, l'accent a-t-il été mis ces dernières années sur le diagnostic indirect, immunologique, qui vise à la mise en évidence dans le sérum de malade d'anticorps anti-gonococciques. La méthode la plus anciennement connue est une réaction de fixation du complément appelée aussi "Gonoréaction", mise au point par MULLER et OPPENHEIM en 1906 (85).

Dans les gonococcies chroniques, cette réaction donne des résultats positifs dans 50 à 88 % des cas selon la localisation et présente donc un intérêt certain.

Plus récemment, d'autres techniques qui n'ont pas encore reçu d'application pratique ont été décrites, en particulier un test d'inhibition de l'hémagglutination (70) et une réaction de micro-précipitation (10) qui ne semblent pas présenter plus d'avantages que la réaction de fixation du complément (70).

MATERIEL ET METHODES D'ETUDE

La difficulté de l'isolement de N. gonorrhoea tient en grande partie au fait que les milieux modernes convenant à sa culture sont coûteux et difficiles à confectionner. Notre travail a consisté dans un premier temps à mettre au point un milieu offrant les mêmes avantages, aisément réalisable en Algérie pour le moment. Cela fera l'objet du premier chapitre. Nous exposerons notre matériel de travail et nos méthodes d'étude dans un deuxième chapitre.

A - MISE AU POINT D'UN MILIEU ENRICHI ET SELECTIF

Nous avons abordé ce travail en utilisant le milieu de THAYER et MARTIN constitué : de Bacto GC Medium, de Bacto Hémoglobine et de Bacto supplément B (DIFCO, Detroit, Michigan, USA). Nous exposerons d'abord, à titre de références, les résultats donnés par ce milieu; nous examinerons ensuite les différents essais que nous avons tentés pour remplacer le supplément B qui nous a fait défaut. Enfin, nous présenterons les résultats que nous avons obtenus avec le milieu de remplacement choisi : le Sensitivity test medium (DIFCO) additionné d'ascite humaine.

1. Milieu de culture

a) le milieu de THAYER et MARTIN (78) qui présente l'aspect d'une gélose chocolat (gélose au sang cuit) donne en 24 heures de petites colonies de 1 mm de diamètre "en gouttes de rosée", souvent difficiles à observer si l'on n'ôte pas le couvercle de la boîte de Petri. En 48 heures, elles augmentent de taille, atteignent 2 à 3 mm de diamètre, s'applatissent, tandis que leur pourtour devient irrégulier, lobulé. Souvent leur centre prend une couleur plus foncée et des papilles peuvent apparaître ;

b) les substances expérimentées en remplacement du supplément B, à savoir :le sérum DUBOS DIFCO, le PPLO Serum Fraction DIFCO, un complexe vitaminique B (B1 - B6 - B12) et l'ascite humaine, n'ont pas donné entière satisfaction ; les résultats obtenus étaient incomparablement inférieurs à ceux du THAYER-MARTIN. Il y a lieu de noter que la culture était néanmoins positive, donnant de minuscules colonies tout comme d'ailleurs le milieu de THAYER-MARTIN sans supplément B.

Ce sont là les raisons qui nous ont conduit à rechercher un autre milieu dont nous possédions le constituant de base, en quantité suffisante, le Sensitivity Test Medium (DIFCO).

c) le Sensitivity test medium additionné d'ascite à 25 % a été choisi comme milieu de culture du gonocoque après de nombreux essais en vue de déterminer la concentration minima d'ascite donnant des résultats au moins comparables à ceux du THAYER-MARTIN.

c1) préparation de l'ascite : l'ascite humaine, de préférence d'origine néoplasique (bien que les ascites cirrhotiques et tuberculeuses peuvent également être utilisées), doit être prélevée chez un malade n'ayant reçu aucun traitement antibiotique préalable pour ne pas gêner la culture de N. gonorrhoea. Recueillie aseptiquement, elle sera préfiltrée sur terre d'infusoires et filtrée sur filtre SEITZ. On procède alors à un premier contrôle de la stérilité. L'ascite ainsi filtrée sera stérilement répartie en tubes de 17 x 170 à vis et tyndallisée, c'est à dire chauffée à 56°C dans un bain-marie pendant une heure, trois jours successifs. Après la tyndallisation, un deuxième contrôle de la stérilité devra être effectué.

La stérilité a été contrôlée en ensemençant deux géloses au sang en boîte de Petri, un bouillon glucosé tamponné et un milieu de Sabouraud pour recherche de levures et de champignons.

Les géloses au sang ont été incubées à 37°C, l'une en aérobiose, l'autre en anaérobiose dans une anaérobie-jarr. Le bouillon glucosé tamponné a été mis à 37°C et le milieu de Sabouraud à 30°C.

La lecture des milieux ensemencés a été faite au bout de 24, 48 et 72 heures.

c2) préparation du milieu sélectif : peser la quantité de Sensitivity test medium nécessaire pour un litre. Ajouter 750 ml d'eau distillée et faire bouillir jusqu'à dissolution de la poudre. Stériliser à l'autoclave à 110°C pendant 15 minutes. Laisser refroidir jusqu'à 45°C-50°C. Ajouter stérilement 250 ml d'ascite et ré-

partir en boîtes de Petri à raison de 20 ml par boîte environ. Les boîtes sont testées, au préalable, en les mettant 18 à 24 heures à l'étuve pendant 15 à 30 jours.

2) Milieu de culture sélectif

Milieu obtenu en ajoutant au Sensitivity test medium + ascite les antibiotiques suivants :

- vancomycine à la concentration de 3 µg/ml de milieu
- colimycine à la concentration de 7,5 µg/ml de milieu
- nystatine à la concentration de 12,5 UI/ml de milieu.

Cet ensemble d'antibiotiques est commercialisé par B.B.L. sous le nom de "VCN Inhibitor Test". Cette association peut être ainsi préparée :

a) préparation des solutions mères

- vancomycine : 300 mg dans 10 ml d'eau distillée. Filtrer
- colimycine : 1 g de Méthane Sulfonate de colimycine dans 13,3 ml d'eau distillée. Filtrer
- nystatine : 500 000 unités dans 4 ml d'alcool méthylique à 5 %. Filtrer.

Ces solutions mères seront mélangées à parties égales.

b) répartition

Le mélange à parties égales a été réparti dans des ampoules à raison de 0,30 ml par ampoule et lyophilisé afin d'obtenir un stock standard d'antibiotiques.

c) préparation du milieu sélectif

Une ampoule de l'association d'antibiotiques lyophilisés est remise en suspension dans 0,30 ml d'eau distillée et versée dans un litre de milieu de culture (Sensitivity test medium et ascite à 25 %) ramené à 45°C. Bien agiter et couler dans des boîtes de Petri qui pourront être gardées au frigidaire à +4°C pendant 15 jours au plus.

B - MATERIEL

Entre le 28 Novembre 1969 et le 21 Juillet 1970, 560 prélèvements ont été pratiqués sur 450 femmes âgées de 14 à 45 ans et 110 hommes de 14 à 54 ans.

450 malades avaient déjà reçu un traitement antibiotique, 110 seulement n'avaient reçu aucune antibiothérapie préalable. Ces prélèvements ont été effectués deux fois par semaine au centre de Salubrité d'Alger (centre d'Estrées) entre Décembre 1969 et Mars 1970. 432 femmes ont ainsi été contrôlées au hasard, sans qu'aucun choix n'intervienne.

117 prélèvements ont été faits au laboratoire des analyses de l'Institut Pasteur d'Algérie chez 110 hommes et 7 femmes suspects de gonococcie et adressés par des médecins des consultations d'hôpitaux, dispensaires, centres médicaux d'Alger.

11 prélèvements nous ont été expédiés dans des milieux de transport type MOFFET, YOUNG et STUART par l'Hôpital Interarmes de l'Armée Nationale Populaire d'Alger, par les laboratoires de la ville et par les hôpitaux périphériques en vue d'un diagnostic et d'un antibiogramme éventuel.

C - METHODES D'ETUDE

1) Les prélèvements doivent être faits minutieusement, le malade s'étant abstenu de toute toilette locale depuis la veille.

a) chez la femme : plusieurs prélèvements ont été pratiqués au moyen d'écouvillons différents imbibés de bouillon ascite, l'un au niveau de l'urètre, l'autre au niveau du col utérin, parfois aussi à l'orifice du canal de la glande de Bartholin. Il est nécessaire de réaliser avant le prélèvement un véritable massage de l'urètre entre le doigt vaginal et la symphyse pubienne de façon à vider les glandes urétrales ; alors peut apparaître une goutte purulente

au niveau du méat, que l'on prélèvera. Les glandes de Bartholin, quand elles sont lésées et perceptibles, doivent être également exprimées. Si elles ne sont pas perceptibles, il ne faut faire un prélèvement que lorsque l'orifice du canal est visible sous forme d'une tâche rouge plus ou moins étendue. Le prélèvement au niveau du col utérin doit être intra-cervical, après avoir pris la précaution de le débarrasser des sécrétions et glaires qui le recouvrent ; l'écouvillon introduit doit être tourné sur place plusieurs fois, de manière à recueillir le maximum d'exsudat (72).

b) chez l'homme : la première goutte méatique obtenue par pression de la fossette naviculaire sera recueillie sur écouvillon. Si l'écoulement est peu abondant, on fera un prélèvement intra-urétral à l'aide d'une anse de platine chauffée et refroidie dans un tube d'eau physiologique. On pourra également prélever un filament urinaire recueilli dans le premier jet. Le massage prostatique permet de vider les petits diverticules de l'urètre prostatique, repaire fréquent du gonocoque dans les urétrites chroniques (72).

2) Transport

Parfois l'ensemencement ne pouvant être effectué sur place, il faut utiliser un milieu de transport.

a) Le milieu de transport utilisé est celui répondant à la formule suivante de MOFFET, YOUNG et STUART (8) :

- eau distillée gélosée à 0,3 % ..... 190 cc
- acide thioglycolique ..... 0,2 cc

Ajuster le pH à 7,2 au moyen de la soude normale.

Ajouter au mélange ci-dessus :

glycérophosphate de soude à 20 % dans l'eau distillée ..... 10 cc

chlorure de calcium à 1 % ..... 2 cc

Ramener le pH à 7 au moyen de la soude normale.

Ajouter alors :

bleu de méthylène à 1 % ..... 0,4 cc

Stériliser à 108°/20 minutes et répartir ensuite stérilement en petits flacons de 1,5 ml à raison de 1 ml. Boucher avec des bouchons en caoutchouc. Dans ce milieu non nutritif, réducteur, le bleu de méthylène sert d'indicateur de potentiel d'oxydo-réduction. Le milieu est incolore, et s'il prend une couleur bleue, il ne doit pas être utilisé. Il se conservera au moins 3 mois à la température de +4°C.

b) L'inoculation du milieu de transport sera effectuée à l'aide d'un écouvillon dont on introduira le coton dans le flacon. Il est nécessaire d'utiliser un flacon pour chaque prélèvement. Ce milieu permet de conserver la vitalité de N. gonorrhoea au moins pendant 24 heures à la température ordinaire. N'étant pas nutritif, il a l'avantage d'empêcher la prolifération des germes saprophytes. Au moment de l'ensemencement, quelques gouttes de milieu seront prélevées à la pipette Pasteur au voisinage immédiat de l'extrémité inférieure du coton ; elles seront déposées sur quatre lames et sur le bord d'une boîte de milieu sélectif où l'on procèdera à un isolement à l'anse de platine.

3) Ensemencement et frottis

a) Chez la femme : le prélèvement a été ensemencé à l'aide des écouvillons, sur une seule boîte de Petri, préalablement annotée, numérotée et divisée en deux : une moitié de la surface a été réservée au prélèvement d'origine cervical, l'autre moitié au prélèvement urétral.

b) Chez l'homme : une boîte entière de milieu sélectif a été utilisée par prélèvement.

Les boîtes ensemencées sont mises à incuber à 37°C sous une cloche reposant sur une plaque de verre. A l'intérieur,sont placés un cristallisoir contenant de l'eau afin de créer une certaine humidité et une bougie allumée, qui, en s'éteignant,aura créé une atmosphère d'environ 10 % de gaz carbonique, humidité et atmosphère de gaz carbonique étant nécessaires à la croissance de N. gonorrhoea.

Quatre frottis sur lames ordinaires, numérotées, seront d'autre part effectués : deux en vue des colorations au bleu de méthylène et de Gram, les deux autres destinés à l'immunofluorescence seront conservés à -20°C jusqu'au moment de leur préparation.

4) Identification

Dans ce chapitre nous examinerons successivement les méthodes suivies pour aboutir au diagnostic de N. gonorrhoea, à savoir : examen microscopique, étude des caractères culturaux et biochimiques.

a) Examen microscopique

a1) Examen microscopique après coloration

- Fixation : elle doit être faite à l'air libre et complétée par une fixation à l'alcool. Il est tout à fait déconseillé de fixer par passages à la flamme, cette technique risquant d'altérer les éléments cellulaires.

- Colorations : pour notre travail, nous avons utilisé deux colorations : la coloration au bleu de méthylène et la coloration selon la méthode de Gram. Meilleure que la coloration simple au bleu de méthylène, la coloration de PICK et JACOBSON sera ainsi effectuée :

coloration de Pick et Jacobson (81) : mélanger extemporanément :

- Fuschine de Ziehl : 15 gouttes
- Solution alcoolique saturée de bleu de méthylène : 15 gouttes
- Eau distillée : 20 ml

Colorer 30 secondes à 1 minute.

Laver à l'eau du robinet.

Sécher.

Examiner au microscope à l'objectif à immersion. Les cellules et les polynucléaires laissent apparaître des noyaux foncés au sein d'un cytoplasme coloré en rose pâle et sur lequel se détachent les groupements caractéristiques de N. gonorrhoea colorés en bleu. La coloration de Pick et Jacobson est plus démonstrative que la colo-

ration au bleu de méthylène car les gonocoques bleus sur fond clair sont rapidement mis en évidence.

coloration de Gram : celle-ci permet d'observer les gonocoques sous forme de diplocoques à Gram négatif généralement très nombreux présentant un aspect en "grains de café" disposés aussi bien à l'intérieur des polynucléaires et macrophages qu'à l'extérieur.

a2) Examen microscopique en immunofluorescence

- Le Microscope : l'appareil que nous avons utilisé pour la lecture des lames est un microscope binoculaire LEITZ, type LABORLUX, spécialement équipé pour la microscopie en fluorescence. Le système d'éclairage comprend : une lampe à vapeur de mercure, type OSRAM, HB 200,enfermée dans un boîtier fixé sur le corps du microscope. Le boîtier contient,outre un filtre anti-calorique KG1 de 2 mm d'épaisseur, un ensemble de filtres bleus de type BG12 d'épaisseur variable que l'on peut,selon les besoins,placer ou déplacer sur les trajets des rayons lumineux. Le système optique comporte un condensateur et deux objectifs, l'un de faible grossissement (x 25), l'autre de grossissement plus fort (x 90). Le premier permet l'exploration de la préparation, tandis que le second sert à l'analyse des détails. Les oculaires utilisés sont de grossissement (x 8).

- Sérum utilisé : nous avons utilisé pour la préparation de nos lames du "BACTO FAN Gonorrhoea" (DIFCO). Il s'agit de globulines de lapin, antigonocoques, conjuguées à du réactif "BACTO FA" et préparé selon la formule de DEACON-PEACOCK-FREEMAN et HARRIS (12).

- Technique : la technique DIRECTE adoptée pour la préparation de toutes nos lames fut la suivante (43) :

fixer le frottis pendant 15 à 20 minutes dans une solution physiologique formolée à 3 % ;

rincer les lames avec de l'eau physiologique tamponnée à pH 7,2 pour assurer une légère alcalinité ;

absorber l'excédent de liquide qui se trouve sur le dos de la lame et au bas du frottis à l'aide du papier buvard ;

mettre sur chaque frottis cerclé une goutte de sérum fluorescent dilué au 1/8 dans de l'eau physiologique. Cette goutte sera ensuite étalée à l'aide d'une tige de verre de faible diamètre rodée à son extrémité ;

poser ces lames sur des baguettes de verre placées dans un bain-marie à 37°C qui servira de chambre humide pendant une heure ;

rincer les lames dans de l'eau physiologique tamponnée ;

les immerger durant 7 minutes environ en utilisant de préférence un porte-lames en verre, dans un cristallisoir contenant une barre de Teflon et de l'eau physiologique tamponnée, et reposant sur un agitateur magnétique pour assurer un lavage soigneux ;

rincer dans de l'eau distillée pendant une minute ;

nettoyer les bords et le dos des lames ;

monter entre lame et lamelle avec de la glycérine tamponnée à pH 7,6 et diluée au 1/2.

- Lecture : les lames seront observées à l'objectif (x 25) ; sur un fond vert pâle constitué par les cellules et les polynucléaires apparaissent de petites tâches brillantes. Le détail sera analysé à l'objectif (x 90). Les gonocoques apparaissent soit sous forme de cocci très fluorescents, intracellulaires, qu'il est difficile de distinguer parce que les polynucléaires sont légèrement fluorescents lorsque le frottis est riche, soit sous forme d'anneaux très visibles, surtout en position extra-cellulaire.

b) Caractères de N. gonorrhoea.

L'étude des caractères de N. gonorrhoea permettant l'identification sur les boîtes ensemencées la veille a été faite en suivant des étapes.

b1) 1er jour :

- Les boîtes sont examinées. La transparence du milieu permet d'observer les colonies par la méthode de transillumination oblique de HENRY (42). Celles-ci, caractéristiques au bout de 24 heures, de diamètre égal à 1 mm, en"gouttes de rosée".

- Une colonie sera étalée sur une lame et l'on pratiquera une coloration de Gram.

- Sur une autre colonie, on recherchera l'oxydase par la méthode de KOVACS (42) qui consiste à étaler sur du papier Whatmann n° 2 cette colonie à l'aide de l'anse de platine. Avec une pipette Pasteur on dépose une goutte de solution d'oxalate de diméthyl paraphényl diamine (réactif oxydase) préparée en ajoutant une pincée de ce réactif dans 10 ml d'eau physiologique. La réaction positive se traduira par un virage au rouge, puis au noir, de la colonie.

- Les autres colonies de même type seront mises en suspension dans quelques gouttes de milieu liquide (Brain Heart Broth Difco additionné d'ascite à 20 %) préalablement réchauffé à 37°C. Une goutte de la suspension ainsi obtenue sera réisolée sur Sensitivity test medium plus ascite. Cette boîte est mise à incuber à 37°C pendant 24 heures.

b2) 2ème jour :

Sur la culture pure obtenue, on pratiquera de nouveau un gram et l'on recherchera l'oxydase, puis :

- on ensemence un Sensitivity test medium plus ascite, que l'on met à une température de 22°C et un Sensitivity test medium sans ascite mis à incuber à 37°C ;

- on inocule par piqûre une gélose profonde VF (viande - foie) à laquelle on aura ajouté 10 gouttes d'ascite ;

- puis on prépare les milieux pour l'étude des glucides.

Ajouter à 3 ml de MULLER-HINTON (DIFCO) stérilisé et ramené à 45°C 0,7 ml d'ascite, 10 gouttes de glucide à savoir : glucose-maltose - lévulose - saccharose à 30 %, et enfin 4 gouttes de solution aqueuse à 0,2 % de bleu de bromothymol.

Couler chacun des milieux glucidiques ainsi préparés dans des boîtes de Petri de 6 cm de diamètre que l'on aura préalablement divisés en quatre (4) quadrants ; ainsi, 4 souches différentes, qui seront ensemencées en stries épaisses, pourront être étudiées sur une seule boîte.

La lecture se fera après 24 à 48 heures d'incubation à 37°C. Le virage du milieu au jaune traduit l'utilisation du sucre étudié.

b3) Les 3ème et 4ème jours, on procède à la lecture. Diplocoques à gram négatif, disposés en grains de café, N. gonorrhoea sera diagnostiqué sur la base des caractères suivants :

- oxydase positive
- aérobie strict
- ne pousse pas sur milieu simple à 37°C ni sur milieu enrichi à 22°C
- pousse seulement sur milieu enrichi à 37°C, en présence d'humidité et sous atmosphère de gaz carbonique
- utilise le glucose seulement.

5) Sensibilité aux antibiotiques et sulfamides

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques et aux sulfamides de N. gonorrhoea ayant été pratiquée sur des souches lyophilisées, nous exposerons d'abord notre technique de lyophilisation avant d'aborder les tests de sensibilité où seront décrits les milieux et les méthodes utilisés.

a) Lyophilisation (42)

a1) Milieu :

Bacto-peptone	60 g
Glucose	50 g
Amidon soluble	10 g
Eau distillée	1 000 ml

pH : 7

Répartir en tubes à vis de 17 x 170 à raison de 10 ml par tube.

a2) Techniques :

Les ampoules ayant été annotées et stérilisées la veille, le jour de la lyophilisation on inocule très richement le tube de milieu avec des colonies de 24 heures. Puis l'on distribue stérilement 1 ml de la suspension obtenue dans des ampoules de 5 ml.

La lyophilisation a été effectuée dans un appareil modèle MS 32/4 USIFROID, France. Le lyophilisat est contrôlé le lendemain sur un milieu enrichi et non sélectif. Les ampoules se conservent à -20°C indéfiniment.

b) La sensibilité aux antibiotiques a été effectuée selon deux méthodes (8).

b1) Méthode par dilution dont le principe est le suivant :

- Les méthodes de dilution en milieu solide consistent à incorporer l'antibiotique au milieu, à l'ensemencer et à lire ensuite directement la première concentration qui inhibe complètement la croissance du germe.

- Comme milieu, nous avons utilisé le Sensitivity test medium (DIFCO) avec 25 % d'ascite. Dans chaque boîte de Petri, nous avons mis 2 ml d'antibiotique et 18 ml de gélose ascite, cette préparation devant se pratiquer obligatoirement sur une surface nivelée.

- Sur ces milieux gélosés, on utilisera une dilution de germes qui devra être ajustée de façon à obtenir des colonies très serrées mais non un film uniforme. Pour cela, chaque tube de 18 x 180 contenant 2 ml de Brain Heart Broth et ascite à 20 % a été ensemencé avec une anse pleine d'une culture de N. gonorrhoea de 24 heures.

Une numération de cet inoculum sera faite en étalant sur une boîte de Petri contenant du Sensitivity test medium plus ascite à 25 %, 0,1 ml de la suspension préparée ainsi que 0,1 ml d'une dilution au 1/10 de ce même inoculum. Sur les cinq séries de 10 souches de N. gonorrhoea que nous avons testées, des inoculum d'environ 10^5 germes par ml ont été obtenus à chaque fois.

L'ensemencement se fait sur chaque boîte de la gamme et sur une boîte témoin sans antibiotique, sous forme d'une strie de 5 cm de long. Cette strie se fait avec une pipette Pasteur calibrée, coupée net à la lime et dont l'extrémité est rodée à la flamme de façon à réduire l'orifice à 5/10 mm environ. Cette pipette coudée à 125° à 1 cm de l'extrémité est présentée à la surface du tube de

dilution de l'inoculum et se remplit par capillarité. Il est possible de faire de multiples stries sur la gélose sans la recharger. Nous avons ainsi testé par cette méthode 51 souches à raison de 10 souches par boîte.

- Pour réaliser nos gammes d'antibiotiques, nous sommes partis de solutions mères très simples dont le titre en dehors du cas de la pénicilline sera de 2 000 µg par ml.

La progression géométrique de raison 2 a été utilisée :

- Pénicilline : de 0,002 UI à 2 UI/ml
- Streptomycine : de 0,5 ug à 32 µg/ml
- Rifampicine : de 0,125 ug à 4 µg/ml
- Kanamycine : de 0,5 ug à 32 µg/ml
- Spiramycine : de 0,5 ug à 32 µg/ml
- Tétracycline : de 0,125 ug à 4 µg/ml.

- Après 48 heures d'incubation sous cloche et à l'étuve à 37°, on note la première concentration qui inhibe complètement la croissance, c'est la concentration minima inhibitrice ou C.M.I.

b2) Méthode par diffusion dont le principe est le suivant :

- On dispose sur la gélose ensemencée d'une boîte de Petri des disques de papier de couleurs différentes. Ces disques ont été préalablement imprégnés avec des solutions de divers antibiotiques et séchés. La diffusion détermine dans la gélose des concentrations décroissantes d'antibiotique. Après culture, chaque disque est entouré d'une zone circulaire où le germe n'a pas poussé. Le diamètre de cette zone d'inhibition permet d'apprécier la sensibilité du germe.

- Le milieu utilisé est le milieu de MULLER-HINTON (DIFCO) additionné de 10 % de sang hémolysé de mouton. Coulé en boîte de Petri sur une surface nivelée, il sera avant utilisation testé une nuit à 37°C et stocké en chambre froide à +4°C.

- Quatre anses bien pleines d'une culture de 24 heures sont mises en suspension dans 10 ml de Brain HEart Broth avec ascite

à 20 % préalablement réchauffé à 37°C. La concentration de germes obtenue dans une telle suspension a été évaluée après numération à 10^5 - 10^6 germes par ml.

Les milieux ont été inondés avec 2 - 3 ml de la suspension. La boîte de Petri fermée est inclinée dans tous les sens. L'opération sera répétée trois fois afin d'en imbiber toute la surface. L'excès de liquide est rejeté en utilisant une pipette boule. La boîte est séchée, ouverte, à l'étuve à 37°C pendant 15 à 30 minutes. Les disques d'antibiotiques à tester sont disposés à raison de six par boîte. Les boîtes de Petri sont placées immédiatement sous cloche en atmosphère humide et en présence d'environ 10 % de gaz carbonique. La prédiffusion à la température du laboratoire, même limitée à deux heures, s'étant avérée défavorable à la culture du gonocoque.

- Les antibiotiques utilisés ont été les suivants :
  - érythromycine
  - pristinamycine
  - céphalotin
  - céphaloridine
  - ampicilline
  - chloramphénicol.

- Pour chaque antibiotique, on mesure au bout de 48 heures le diamètre de la zone d'inhibition avec un pied à coulisse appliqué légèrement au-dessus de la gélose. Ce diamètre sera reporté sur l'échelle de concordance établie par l'Institut Pasteur de Paris. La concentration minima inhibitrice ou C.M.I. peut être ainsi facilement déterminée par la mesure du diamètre d'inhibition. L'interprétation, basée sur ce principe, est variable suivant l'antibiotique.

c) La sensibilité aux sulfamides a été effectuée selon la méthode par dilution. Le principe est le même que précédemment.

- Le milieu utilisé est ici également du MULLER-HINTON (DIFCO) auquel on a ajouté du sang hémolysé de mouton à une concentration de 10 %. La préparation des boîtes se faisant sur une surface nivelée, à 18 ml de MULLER-HINTON plus sang on incorpore 2 ml du sulfamide à tester.

- L'inoculum, comme précédemment, a été évalué à environ 10^5-10^6 germes par ml.

L'ensemencement se fera sur chaque gamme de la boîte et sur la boîte témoin par stries de 5 cm de long.

- La gamme utilisée pour chaque sulfamide a été la suivante : 1 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml.

Nous avons étudié la sensibilité de N. gonorrhoea vis à vis de :

- sulfathiazol
- sulfadiazine
- sulfaméthoxypyridazine
- sulfafurazol.

- Au bout de 48 heures les boîtes mises sous cloche sont retirées de l'étuve et l'on note la première concentration qui inhibe complètement la croissance : concentration minima inhibitrice ou C.M.I.

R E S U L T A T S

Nous exposerons d'abord les résultats donnés par les différentes méthodes de diagnostic utilisées, puis ceux des tests de sensibilité aux antibiotiques pratiqués sur les souches de gonocoque isolées.

A) DIAGNOSTIC

1. Résultats globaux.

560 prélèvements ont été examinés par les méthodes suivantes : examen microscopique d'une part après colorations de Gram et au bleu de méthylène, d'autre part en immunofluorescence et enfin culture sur milieu sélectif.

Le Tableau I où figurent les résultats globaux montre une différence très nette entre les résultats positifs obtenus par les examens microscopiques et ceux obtenus par culture.

Tableau I : Résultats positifs des examens pratiqués par les différentes méthodes.

Total des Prélèvements	BLEU		GRAM		IF		CULTURE	
	N	%	N	%	N	%	N	%
560	115	20,5 %	82	14,6 %	107	19,1 %	65	11,6 %

La culture a été positive dans 11,6 % des cas seulement (65 souches isolées) alors que l'examen microscopique accroît notablement ce pourcentage de positivité mais de manière plus ou moins importante selon la méthode : 20,5 % après coloration au bleu de méthylène, 14,6 % par la méthode de Gram et 19,1 % par la technique d'immunofluorescence directe.

Le Tableau II permet de mieux apprécier cette différence en faisant ressortir davantage la part de chaque examen dans ces résultats.

Tableau II : Comparaison entre les résultats des examens microscopiques et de la culture pratiqués sur 560 prélèvements

Série N°	BLEU	GRAM	IF	Culture	Cas observés	
					N	%
I	+	+	+	+	60	10,7 %
II	+	+	+	-	4	0,7 %
III	+	+	-	-	18	3,2 %
IV	+	-	-	-	33	5,8 %
V	-	-	-	-	399	71,2 %
VI	-	-	+	+	2	0,3 %
VII	-	-	-	+	3	0,5 %
VIII	-	-	+	-	41	7,3 %

Ce tableau, où figurent les huit possibilités de diagnostic, montre une concordance de tous les examens dans deux séries de cas qui englobent 81,9 % des prélèvements :

dans la série I (10,7 % des cas), tous les examens sont positifs

dans la série V (71,2 % des cas), tous les examens sont négatifs.

Toutes les autres possibilités de diagnostic qui ont été envisagées donnent des résultats discordants.

- Ainsi, la culture est négative dans 9,7 % des cas alors que les examens microscopiques donnent des résultats positifs (séries II, III et IV). Il y a lieu de remarquer que moins l'examen microscopique est spécifique et plus la discordance augmente. La coloration au bleu de méthylène (série IV) qui est la moins spécifique est seule positive

dans 5,8 % des cas. Deux examens combinés - Bleu de méthylène et Gram - diminuent ce pourcentage à 3,2 % (série III), tandis que si l'on associe (série II) les trois examens microscopiques - Bleu de méthylène, Gram et Immunofluorescence - le pourcentage des résultats positifs, la culture étant négative, devient négligeable (0,7 % des cas).

- A l'inverse, la culture est positive alors que les examens microscopiques sont négatifs, après coloration (série VI et VII) ou en immunofluorescence (série VII), bien que dans un très faible pourcentage de cas, respectivement 0,8 % et 0,5 %.

- Enfin, un dernier type de discordance est à noter : celui où seul l'examen microscopique en immunofluorescence est positif. On l'observe dans 7,3 % des cas (série VIII).

2. Résultats analytiques.

Les résultats analytiques permettent d'expliciter les différences constatées entre les examens microscopiques et la culture. Nous les exposerons d'abord en fonction du sexe, puis du traitement et enfin selon la forme clinique.

a) Résultats des examens en fonction du sexe.

a1) Hommes

Tableau III : Comparaison entre les résultats des examens microscopiques et de la culture chez l'homme

(voir tableau page suivante)

Série N°	BLEU	GRAM	IF	Culture	Cas observés N	Cas observés %
I	+	+	+	+	46	41,8 %
II	+	+	+	-	1	0,9 %
III	+	+	-	-	1	0,9 %
IV	+	-	-	-	4	3,6 %
V	-	-	-	-	45	40,9 %
VIII	-	-	+	-	13	11,8 %

- Sur 110 prélèvements effectués sur des hommes, six possibilités de diagnostic ont été relevées.

Les constatations suivantes sont à noter :

- Toutes les fois que la culture est positive, les examens microscopiques, bleu, Gram et immunofluorescence sont également positifs, ce que l'on observe dans 41,8 % des cas.

- Les examens microscopiques après coloration sont positifs et la culture négative dans 5,4 % des cas (séries II, III et IV). Cependant, il faut remarquer que c'est la coloration la moins spécifique, le bleu de méthylène qui donne (série IV) la discordance la plus élevée : 5,4 %, tout autre examen étant négatif. La coloration de Gram seule ne donne de "faux" résultats positifs que dans un pourcentage de cas négligeable : 1,8 % (séries II et III).

- Au total, il y a concordance des résultats entre la culture et les examens microscopiques après coloration dans 82,7 % des prélèvements, soit 41,8 % positifs (série I) et 40,9 % négatifs (série V).

- En ce qui concerne l'immunofluorescence, on constate des résultats discordants avec la culture (IF +, culture -) dans 12,7 % des cas (séries II et VIII).

a2) Femmes

450 prélèvements ont été pratiqués chez des femmes et huit possibilités de diagnostic ont été observées. Il est à noter une concordance des résultats donnés par l'ensemble des examens microscopiques et par la culture dans 81,7 % des cas, soit 3,1 % de résultats positifs (série I) et 78,6 % de résultats négatifs (série V).

Tableau IV : Comparaison entre les résultats des examens microscopiques et de la culture chez la femme

Série N°	BLEU	GRAM	IF	Culture	Cas observés	
					N	%
I	+	+	+	+	14	3,1 %
II	+	+	+	-	3	0,6 %
III	+	+	-	-	17	3,7 %
IV	+	-	-	-	29	6,4 %
V	-	-	-	-	354	78,6 %
VI	-	-	+	+	2	0,4 %
VII	-	-	-	+	3	0,6 %
VIII	-	-	+	-	28	6,2 %

- Les examens microscopiques après coloration sont positifs et la culture négative dans 10,7 % des cas, la discordance étant d'autant plus accentuée que l'examen est moins spécifique. Ainsi la coloration au bleu de méthylène entraîne 10,7 % de "faux" résultats positifs (séries II, III et IV) et le Gram 4,3 % (série II et III) seulement.

- Les résultats de l'examen microscopique en immunofluorescence ne concordent pas avec ceux donnés par la culture dans 7,4 % des cas, celle-ci étant négative et l'immunofluorescence positive pour 6,2 % des prélèvements.

En résumé, si l'on compare les résultats de chacun des examens microscopiques et ceux de la culture, on constate qu'ils concordent dans des proportions variables selon l'examen considéré (TAbleau V).

Tableau V : Pourcentage des résultats concordants entre culture et examens microscopiques

Examens microscopiques	Hommes	Femmes
B L E U	94,5 %	87,9 %
G R A M	98,1 %	94,3 %
I F	87,2 %	92,2 %

Si nous prenons en considération les résultats (négatifs et positifs), on remarque que la coloration de Gram concorde avec la culture dans 98,1 % des cas chez l'homme et 94,3 % des cas chez la femme.

La coloration au bleu de méthylène est comparable à la culture dans 94,5 % des cas chez l'homme et seulement 87,9 % chez la femme.

L'examen microscopique en immunofluorescence directe semble donner de moins bons résultats que la coloration de Gram : dans 87,2 % des cas chez l'homme, il existe une concordance avec la culture ; chez la femme, le pourcentage est légèrement supérieur (92,2 %).

Cette discordance importante entre les résultats de l'examen en immunofluorescence et ceux de la culture ne signifie pas pour autant que la méthode par IF est moins sensible que la coloration de Gram, ou même inférieure à la culture.

En effet, pratiquement toutes les fois que la culture est positive, l'examen en immunofluorescence est positif, aussi bien chez l'homme que chez la femme (tableaux III et IV). La méthode s'avère donc généralement plus sensible que la coloration de Gram.

Plus encore, très souvent, la culture est négative alors que l'examen en immunofluorescence est positif (tableaux III et IV, séries VIII). Cela peut s'expliquer soit par l'influence du traitement soit par la forme chronique ou aiguë de la maladie.

b) Résultats en fonction du traitement.

Le tableau VI permet de comparer les résultats positifs donnés par la culture et par l'examen en immunofluorescence en fonction du traitement. Est considéré comme traité tout malade ayant reçu une antibiothérapie depuis au moins 24 heures.

Tableau VI : Comparaison entre les résultats de l'examen microscopique en immunofluorescence et de la culture en fonction du traitement

(voir tableau page suivante)

TRAITES	Nombre	Cultures +		I F +	
		N	%	N	%
	450	24	5,3 %	57	12,6 %
NON TRAITES	110	41	37,2 %	50	45,4 %

Ce tableau permet de constater :

1°) le pourcentage élevé de résultats positifs à la culture ou en immunofluorescence chez les malades non traités par rapport aux malades traités : 37,2 % de cultures positives contre 5,3 % ; 45,4 % d'examens en IF positifs contre 12,6 % ;

2°) l'apparente supériorité de l'immunofluorescence directe sur la culture aussi bien chez les malades traités (12,6 % contre 5,3 %) que chez les malades non traités (45,4 % contre 37,2 %).

Par conséquent, l'influence du traitement n'explique pas cette discordance en faveur de l'immunofluorescence.

L'examen des résultats en fonction de la forme clinique de la maladie, aiguë ou bien chronique, permettrait d'en trouver l'explication.

c) Résultats comparés de l'immunofluorescence directe et de la culture en fonction de la forme clinique de la maladie.

Dans le tableau VII, figurent les résultats positifs comparés de l'immunofluorescence et de la culture selon la forme aiguë ou chronique de la maladie.

Indépendamment du traitement, est considéré comme aigu tout cas évoluant au maximum depuis dix jours et comme chronique tout cas évoluant depuis au moins trois semaines.

Tableau VII : Comparaison entre les résultats de l'examen microscopique en immunofluorescence et de la culture en fonction de la forme clinique

Formes cliniques	Nombre	I F +		Culture +	
		N	%	N	%
Forme chronique >21 jours	480	57	11,8 %	12	2,5 %
Forme aiguë <10 jours	80	50	62,5 %	53	66,2 %

Il est remarquable de constater que dans les 80 gonococcies aiguës, les pourcentages de positivité donnés par la culture et l'examen microscopique en immunofluorescence sont peu différents, soit 66,2 % pour l'immunofluorescence, et 62,5 % pour la culture. Par contre, dans les formes chroniques, sur 480 prélèvements examinés, 57 soit 11,8 % sont positifs à l'examen microscopique en immunofluorescence, contre 12, soit 2,5 % après culture.

La recherche de N. gonorrhoea par la méthode d'immunofluorescence directe apparaît donc a priori intéressante dans les gonococcies chroniques où la culture est souvent négative. En effet, d'une manière générale, dans ces gonococcies chroniques, nous avons constaté que les germes étaient très peu nombreux (3 à 10) sur le frottis examiné en immunofluorescence, ce qui explique peut-être que la culture soit négative d'autant que nous avons utilisé uniquement un milieu de culture sélectif, et donc forcément inhibiteur dans une

certaine mesure.

Mais il restera à discuter de la spécificité de cette technique onéreuse et surtout délicate car demandant un personnel qualifié.

B) TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES ET AUX SULFAMIDES

1 - Résultats globaux.

65 souches de N. gonorrhoea ont été isolées à Alger à partir de 560 prélèvements. 51 ont fait l'objet à l'Institut Pasteur d'Alger d'un test de sensibilité aux antibiotiques et aux sulfamides ; 46 d'entre elles ont été testées simultanément au Centre International des Neisseria (Dr Miss Alice REYN) à Copenhague (Danemark).

Le tableau VIII, qui figure en annexe, indique pour chaque souche isolée et testée les concentrations minima inhibitrices d'antibiotiques exprimées en UI/ml ou en µg/ml de milieu obtenues à Alger d'une part et à Copenhague d'autre part.

Les interprétations d'A. REYN étant différentes de celles de CHABBERT qui ont été adoptées à Alger, nous présenterons successivement nos résultats puis ceux obtenus à Copenhague.

a) à Alger

Sur 51 souches de N. gonorrhoea, 13 soit 25,4 % se sont révélées résistantes à la streptomycine et 5 soit 9,8 % à la kanamycine. Une souche isolée chez une malade traitée à plusieurs reprises s'est montrée résistante, en plus, aux pénicillines semi-synthétiques (ampicilline, cephaloridine et cephalotin), au chloramphénicol, à l'érythromycine et à la pristinamycine.

Tableau IX : Etude de la sensibilité des 51 souches testées et interprétées à Alger

(voir page suivante)

Tableau IX : Etude de la sensibilité des 51 souches testées et interprétées à Alger

Sensibilité des souches		Peni	Ampi	Cephalotin	Cephaloridine	Strepto	Kana	Tetra	Erythro	Spira	Pristina	Chloramph	Rifamp
SENSIBLE	N	48	45	47	47	7	7	46	40	40	42	44	50
	%	94,1	88,1	92,1	92,1	13,7	13,7	90,1	78,4	78,4	82,3	86,2	98
LIMITE	N	3	5	3	3	31	39	5	10	11	8	6	1
	%	5,8	9,8	5,8	5,8	60,7	76,4	9,8	19,6	21,5	15,6	11,7	1,9
RESISTANT	N		1	1	1	13	5		1		1	1	
	%		1,9	1,9	1,9	25,4	9,8		1,9		1,9	1,9	

39 souches (76,4 %) ont présenté une sensibilité limite à la kanamycine, 31 (60,7 %) à la streptomycine, 11 (21,5 %) à la spiramycine, 10 (19,6 %) à l'érythromycine et 8 (15,6 %) à la pristinamycine. De rares souches sont également moins sensibles (sensibilité limite) à la tétracycline et à l'ampicilline (5 soit 9,8 %) ainsi qu'aux autres pénicillines (3 soit 5,8 %).

On notera donc que la majorité des souches isolées sont sensibles à la pénicilline (94,1 %),à la cephalotin et à la céphaloridine (92,1 %), à la tétracycline, au chloramphénicol (86,2 %) et surtout à la Rifampicine (98 %). A l'égard des sulfamides, la majorité, soit 94 à 97 % des 38 souches testées, présentent une sensibilité limite.

Tableau X : Etude de la sensibilité de 38 souches vis à vis des sulfamides testées et interprétées à Alger

(voir page suivante)

Tableau X : Etude de la sensibilité de 38 souches vis à vis des Sulfamides, testées et interprétées à Alger

Sensibilité des souches		Sulphathiazol	Sulfadiazine	Sulfamétoxypy-ridazine	Sulfafurazol
SENSIBLE	N	2	1		1
	%	5,2	2,6		2,6
LIMITE	N	36	37	37	36
	%	94,7	97,3	97,3	94,7
RESISTANT	N			1	1
	%			2,6	2,6

b) à Copenhague

46 souches de N. gonorrhoea, isolées à Alger, ont été testées au Centre International de Référence des Neisseria vis à vis de 10 antibiotiques et sulfamides : Pénicilline G, Streptomycine, Kanamycine, Tetracycline, Erythromycine, Spiramycine, Chloramphénicol, Rifampicine, Acide Nalidixique et Sulfathiazol.

Tableau XI : Etude de la sensibilité des 46 souches testées et interprétées par Copenhague

(voir page suivante)

Tableau XI : Etude de la sensibilité des 46 souches testées et interprétées par Copenhague

Sensibilité des souches		Peni	Strepto	Kana	Tetra	Erythro	Spira	Chlo-ramp	Rifamp	Ac. Nalidi-xique	Sulfa-thiazol
SENSIBLE	N	27	29	7	38	30	26	43	33	46	46
	%	58,6	63	15,2	82,6	65,2	56,5	93,4	71,7	100	100
MOINS SENSIBLE (++)	N			39		15		3			
	%			84,7		32,6		6,5			
LESS SENSIBLE (+)	N	19			8	1	20		13		
	%	41,3			17,3	2,1	43,4		28,2		
RESISTANT	N		17								
	%		36,9								

17 souches, soit 36,9 %, se sont montrées résistantes à la streptomycine ; c'est le seul type de résistance observée. 20 (43,4 %) ont présenté une sensibilité limite à la spiramycine, 19 (41,3 %) à la pénicilline, 13 (28,2 %) à la rifampicine et 8 (17,3 %) à la tétracycline.

Les deux tiers des souches environ sont sensibles à la pénicilline G (58,6 %), à la streptomycine (63 %), à la spiramycine (56,5 %) et à la rifampicine (71,7 %) ; 38 (82,6 %) sont sensibles à la tétracycline.

Vis à vis du chloramphénicol, de la kanamycine, de l'érythromycine, de l'acide nalidixique et du sulfathiazol, toutes les souches (46) sont sensibles.

2 - Résultats analytiques

La sensibilité des souches de N. gonorrhoea a été étudiée d'une part en fonction du traitement et d'autre part en fonction de la forme clinique, aiguë ou chronique, de la maladie.

a) en fonction du traitement

a1) à Alger : les résultats obtenus à Alger (tableau XII a)) ne montrent pas de différence significative quant à la sensibilité des gonocoques, entre les souches isolées chez des malades traités ou chez des malades n'ayant reçu aucune thérapeutique préalable.

En effet, si l'on devait rapporter les pourcentages de sensibilité limite ou de résistance, à un même nombre de souches considérées, on obtiendrait des résultats à peu près identiques dans les deux cas.

a2) à Copenhague : le tableau XII b) qui nous donne les résultats obtenus à Copenhague sur les souches isolées chez des malades traités ou non traités confirme notre constatation.

Par conséquent, au vu de ces deux séries de résultats, il semble que la résistance de Neisseria gonorrhoea n'est pas fonction de la thérapeutique reçue ou en cours.

Tableau XII : Etude des souches limites et résistantes en fonction du traitement

(voir page suivante)

a) Alger : 51 souches

Traitement	Nombre		Peni		Ampi		Cephalotin		Cephaloridine		Strepto		Kana		Tetra		Erythro		Spira		Pristina		Chloramph		Rifamp	
			L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R
T	27	N	2		2	1	2	1	2	1	18	7	21	2	3		8	1	7		4	1	5	1	1	
		%	7,4		7,4	3,7	7,4	3,7	7,4	3,7	66,6	25,9	78,1	7,4	11,1		29,6	3,7	25,9		14,8	3,7	18,5	3,7	3,7	
NT	24	N	1		3		1		1		13	6	18	3	2		2		4		4		1			
		%	4,1		12,5		4,1		4,1		54,1	25	75	12,5	8,3		8,3		16,6		16,6		4,1			

b) Copenhague : 46 souches

Traitement	Nombre		Péni		Strepto		Kana		Tetra		Erythro		Spira		Chloramph		Rifamp	
			L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R
T	24	N	10			10			3		1		11				7	
		%	41,6			41,6			12,5		4,1		45,8				29,1	
NT	22	N	9			7			5				9				6	
		%	40,9			31,8			22,7				40,9				27,2	

b) en fonction de la forme clinique de la maladie

Si l'on considère les résultats obtenus aussi bien à Alger qu'à Copenhague (tableau XIII a) et b)), on constate que la forme clinique, aiguë ou chronique, de la gonococcie n'influe pas sur la sensibilité des souches.

Tableau XIII : Etude des souches limites et résistantes en fonction de la forme clinique

(voir page suivante)

a) Alger : 51 souches

Forme clinique	Nombre		Peni L	Peni R	Ampi L	Ampi R	Cephalotin L	Cephalotin R	Cephaloridine L	Cephaloridine R	Strepto L	Strepto R	Kana L	Kana R	Tetra L	Tetra R	Erythro L	Erythro R	Spira L	Spira R	Pristina L	Pristina R	Chloramph L	Chloramph R	Rifamp L	Rifamp R
Forme chronique	23	N	2		2		2		2		17	5	21	1	1		6		6		3		3	1	1	
		%	8,6		8,6		8,6		8,6		73,9	21,7	91,3	4,3	4,3		26		26		13		13	4,3	4,3	
Forme aiguë	28	N	1		3	1	1	1	1	1	14	8	18	4	4		4	1	5		5	1	3			
		%	3,5		10,7	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	50	28,5	64,2	14,2	14,2		14,2	3,5	17,8		17,8	3,5	10,7			

b) Copenhague : 46 souches

Forme clinique	Nombre		Peni L	Peni R	Strepto L	Strepto R	Kana L	Kana R	Tetra L	Tetra R	Erythro L	Erythro R	Spira L	Spira R	Chloramph L	Chloramph R	Rifamp L	Rifamp R
Forme chronique	24	N	9			9			1				10				6	
		%	37,5			37,5			4,1				41,6				25	
Forme aiguë	22	N	10			8			7		1		10				7	
		%	45,4			36,3			31,8		4,5		45,4				31,8	

En effet, dans l'un et l'autre cas, on constate que quel que soit l'antibiotique considéré, si l'on rapporte les pourcentages à un même nombre, on obtient des résultats tous sensiblement identiques.

Ainsi, considérant la sensibilité des souches de Neissera gonorrhoea que nous avons testées, il s'avère que ni le traitement, ni la forme clinique n'influent. Cette observation était cependant prévisible dans la mesure où il est théoriquement impossible de rencontrer une résistance acquise chez des germes "banaux" contrairement à ce que l'on constate couramment avec Mycobacterium tuberculosis.

c) Relations entre la sensibilité in vitro de N. gonorrhoea à différents antibiotiques

A. REYN (71) constate une relation entre les sensibilités de N. gonorrhoea à différents antibiotiques. Elle a signalé en particulier que les souches à sensibilité limite à la pénicilline G présentaient en même temps une résistance à la streptomycine et une sensibilité limite à la tétracycline et à la spiramycine.

DUREL (16), sept années auparavant, avait déjà observé une relation entre résistances à la pénicilline et streptomycine.

Nous avons tenté de trouver de telles relations en étudiant les sensibilités des souches isolées à Alger et testées à l'Institut Pasteur d'Alger d'une part et à Copenhague d'autre part.

c1) à Copenhague

A. REYN constate (tableau XIV) que les souches présentant une sensibilité limite à la pénicilline étaient également moins sensibles (less sensitive = limite) à la tétracycline, à la spiramycine et à la rifampicine ou résistantes à la streptomycine.

Tableau XIV : Relations entre les sensibilités, observées par Copenhague

Souches	Pénicilline	Strepto-mycine	Tetra cycline	Spiramycine	Rifampicine
1	LS	R	LS	LS	LS
458	LS	R	LS	LS	S
314	LS	R	LS	LS	LS
152	LS	R	LS	LS	LS
454	LS	R	S	LS	LS
335	LS	R	S	LS	S
446	LS	R	LS	LS	LS
27F	LS	R	S	LS	LS
447	LS	R	LS	LS	LS
361	LS	R	S	LS	S
4B	LS	R	LS	LS	LS
436	LS	S	S	LS	LS
508	LS	S	S	LS	S
371	LS	S	S	LS	LS
443	LS	R	S	LS	LS
397	LS	R	S	LS	S
2B	LS	R	LS	LS	LS
481	LS	R	S	S	S
372	LS	R	S	S	S
Total	19 LS	15 R	8 LS	17 LS	12 LS

LS = Less sensitive = Limite
R = Résistante
S = Sensible

Sur 19 souches de sensibilité limite à la pénicilline G, elle note 17 souches "limites" à la spiramycine, 12 à la rifampicine, 8 à la tétracycline, 15 résistantes à la streptomycine (communication personnelle).

c2) à Alger

Les observations de A. REYN n'ont pas été retrouvées à Alger et les seules relations de résistance ou de sensibilité limite fréquemment rencontrées concernent la streptomycine et la kanamycine.

Tableau XV : Relations entre les sensibilités observées par Alger

Souches	Streptomycine	Kanamycine
458	R	L
2B	R	L
3	R	L
4B	R	R
397	R	L
446	R	L
335	R	L
1	R	R
27E	R	L
6c	R	S
361	R	R
481	R	L
447	R	R
Total	13 R	4 R 8 L

S = sensible
L = limite
R = résistant

En effet, sur les 13 souches résistantes à la streptomycine, on trouve 12 souches résistantes ou à sensibilité limite à la kanamycine.

D I S C U S S I O N

Deux points essentiels, l'un portant sur les méthodes de diagnostic microscopique, l'autre sur la sensibilité aux antibiotiques, seront discutés.

A) Méthodes de diagnostic microscopique

1 - Examens microscopiques après colorations

a) coloration au Bleu de méthylène

Les résultats que nous avons obtenus montrent clairement que, comparés aux cultures positives, les examens après coloration au Bleu de méthylène donnent lieu à une interprétation erronée, autrement dit à des résultats "faussement positifs", dans un nombre élevé de cas, en particulier chez la femme.

Le tableau XVI montre en effet que sur 110 prélèvements effectués sur des hommes, on obtient 41,8 % de cultures positives contre 47,2 % de colorations au Bleu de méthylène positives. Cette différence est beaucoup plus significative chez les femmes : sur 450 prélèvements, 4,1 % des cultures se sont montrées positives, contre 13,8 % des colorations au BLeu de méthylène, soit trois fois plus que la culture.

Cette dissimilitude entre les résultats de l'examen microscopique après coloration au bleu de méthylène chez l'homme et chez la femme semble liée aussi bien à la forme, aiguë ou chronique, de la maladie qu'à la nature très souvent pluri-microbienne du prélèvement effectué.

En effet, dans les gonococcies aiguës que nous avons observées le plus fréquemment chez des hommes (80 %), l'aspect microscopique est assez caractéristique pour évoquer immédiatement le gonocoque : cocci arrondis ou ovalaires, parfois isolés mais le plus souvent disposés par paires dont les deux éléments sont séparés par un espace clair à bords parallèles, constituant une image en "grains de café" ; rarement extracellulaires, la plupart sont intracellulaires inclus dans le protoplasme des polynucléaires en nombre variable, 2, 8, 20, et même plus à tel point que la cellule est parfois bourrée de microbes.

Par contre, les gonococcies chroniques parfois traitées à plusieurs reprises ont été surtout observées chez des femmes (70 %). Dans ces cas, l'aspect microscopique est loin d'être aussi révélateur, les gonocoques sont généralement très peu nombreux (2 à 5) dans de tels prélèvements qui sont par ailleurs pluri-microbiens ; on y trouve une flore plus ou moins importante et polymorphe : des cocci (staphylocoques en particulier), des Moraxella ou des Alcaligenes faecalis qui se présentent quelquefois comme des coccobacilles, peuvent être abusivement considérés comme des gonocoques. La coloration au bleu de méthylène n'étant pas différentielle, toutes les bactéries apparaissent colorées en bleu.

Tableau XVI : Comparaison entre les résultats positifs donnés par les examens microscopiques et la culture en fonction du sexe

	Nombre	Culture +		Bleu +		Gram +		IF +	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Hommes	110	46	41,8	52	47,2	48	43,6	60	59,5
Femmes	450	19	4,1	63	13,8	34	7,4	47	10,3
Total	560	65	11,6	115	20,5	82	14,6	107	19,1

b) coloration de Gram

L'examen microscopique après coloration par la technique de Gram donne lieu à moins d'erreurs par excès que la coloration simple au bleu de méthylène. En effet, le tableau XVI nous permet de constater qu'elle donne un pourcentage de positivité sensiblement identique à celui de la culture chez l'homme (43,6 % contre 41,8 %). Chez la femme, au contraire, on observe une différence assez nette allant presque du simple au double ; pour 19 cultures positives, soit 4,1 %, on note 34 colorations de gram positives, soit 7,4 %.

Tout en étant meilleure que la coloration au bleu de méthylène grâce à son caractère différentiel qui permet d'éviter les erreurs imputables aux cocci à gram positif, la coloration de Gram reste néanmoins peu fidèle chez la femme et d'une manière générale dans les gonococcies chroniques.

Par conséquent, une confusion demeure possible avec les coccobacilles à gram négatif (Moraxella,alcaligenes) que l'on rencontre dans ces types de prélèvements pluri-microbiens.

Cette discordance entre examens microscopiques et cultures avait déjà été constatée et signalée par DEBRAY et LE MINOR en 1948 (11).

2 - Examen microscopique en Immunofluorescence

Si l'on considère le tableau XVI, il apparaît que l'examen microscopique en immunofluorescence comparé à la culture est a priori moins fidèle que la coloration de Gram. Chez l'homme, on constate que pour 41,8 % de cultures positives on observe 59,5 % d'examens en immunofluorescence positifs et chez la femme, 4,1 % de cultures positives pour 10,3 % de positivité en immunofluorescence. Ce résultat paradoxal, eu égard à la spécificité de la méthode, ne peut être explicité que par de fausses ou de "vraies" fluorescences.

- Les fausses fluorescences sont dues, d'une part à l'existence de communautés antigéniques entre N. gonorrhoea et les autres types de Neisseria, d'autre part au fait que dans le sérum de lapin antigonococcique on trouve des anticorps antistaphylococciques (14, 15, 30, 70). Dans notre travail, nous pouvons éliminer d'emblée les fausses fluorescences dues aux Neisseria autres que le gonocoque, puisque nous ne les avons jamais isolées sur le milieu de culture sélectif utilisé et qui convient parfaitement à leur multiplication. Le problème des staphylocoques pathogènes ne peut pas être ignoré bien que nous ayons testé plusieurs souches avec du sérum antigonococcique sans avoir observé de fluorescence. En effet, différents auteurs signalent que les fausses fluorescences ne s'observent qu'avec certaines souches de Staphylococcus aureus (14, 15, 30, 70).

- Cependant, sans négliger l'éventualité de ce dernier type de fausse fluorescence, on peut aussi bien se demander s'il ne s'agit pas en réalité de fluorescences "vraies".

Il a été constaté que l'addition de 3 µg/ml de vancomycine aux milieux de culture inhibait 3 % des souches de N. gonorrhoea (30). Si l'on prend en considération cette observation, dans notre travail, on aurait dû obtenir en culture, sur 560 prélèvements, 82 souches, soit 14,6 %. Ce pourcentage se rapproche sensiblement de celui obtenu par la méthode d'immunofluorescence directe (19,1 %) mais cela ne suffit pas à élucider complètement les discordances constatées entre immunofluorescence et culture.

- Une hypothèse complémentaire peut être avancée pour justifier les fluorescences "vraies" : le petit nombre (3 à 5) de gonocoques (?) présents sur certains frottis examinés en immunofluorescence et provenant surtout de cas chroniques (tableau VII).

La culture sur le milieu sélectif ayant été effectuée avec le même écouvillon que le frottis, il n'est pas impossible que la distribution des germes ait été inégale. Cette explication semblerait confirmée par l'existence de cultures positives avec des immunofluorescences négatives (tableau II). Mais nous rejoindrons pour notre part LIND (70) qui estime que le facteur primordial qui intervient est la variabilité du milieu sélectif utilisé, plus ou moins favorable à la culture de N. gonorrhoea selon les lots.

En faveur de cette hypothèse milite l'utilisation de plus en plus courante, dans certains laboratoires, de la technique d'immunofluorescence directe "différée" (15). Celle-ci consiste à pratiquer l'examen microscopique en immunofluorescence après "enrichissement" préalable - c'est-à-dire après une culture de 18 heures - sur milieu non sélectif, donc non inhibiteur, afin de permettre une multiplication des germes, facilitant ainsi leur mise en évidence. Cette technique s'est révélée meilleure que la culture, donnant un plus fort pourcentage de résultats positifs.

Par conséquent, il est compréhensible qu'un examen minutieux en Immunofluorescence directe immédiate permette d'aboutir aux mêmes constatations : l'immunofluorescence directe immédiate, très minutieusement effectuée, de même que l'immunofluorescence directe différée, sont supérieures à la culture dans les cas chroniques où le nombre de germes présents est petit.

Les mêmes résultats discordants entre examens microscopiques en immunofluorescence directe et la culture ont été signalés à l'étranger.

Cependant, seule l'observation de MOUTON, rapportée par A. REYN (70), rejoint nos constatations à propos de la supériorité de l'immunofluorescence directe immédiate sur la culture (70). Sur 100 prélèvements, MOUTON note 50 examens en immunofluorescence positifs pour 33 cultures positives.

La plupart des autres auteurs estiment que les résultats de l'immunofluorescence directe immédiate ne sont que comparables à ceux donnés par la coloration de Gram. Ces méthodes étant toutes deux inférieures à la culture (70, 14, 15), la technique d'immunofluorescence directe différée est jugée plus sensible que la culture, mais onéreuse et moins rapide que l'immédiate (70, 30).

A notre avis, il n'y a pas de différence appréciable entre ces deux techniques d'immunofluorescence directe, car la méthode différée ne présente pour seul avantage que de limiter le nombre de champs microscopiques à examiner, du fait de l'enrichissement préalable réalisé sur culture. L'immunofluorescence directe immédiate permet, nous semble-t-il, d'aboutir au même résultat à condition d'examiner si nécessaire tout le frottis.

B) Sensibilité aux antibiotiques.

1 - Comparaison entre les résultats obtenus à l'Institut Pasteur d'Algérie et à Copenhague sur les souches isolées à Alger.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches de N. gonorrhoea isolées à Alger a abouti parfois à des résultats différents, selon qu'elle était faite à Copenhague ou à Alger. Cette discordance n'a pas été générale pour tous les antibiotiques.

Les résultats de Copenhague et d'Alger concordent généralement, du moins en ce qui concerne leur interprétation, pour la streptomycine, la tétracycline, l'érythromycine et le chloramphénicol. Les variations portent essentiellement sur la Pénicilline G, la kanamycine, la spiramycine, la rifampicine et le sulfathiazol.

Le Centre International des Neisseria à Copenhague (Dr A. REYN) trouve ainsi que 19 souches, soit 41,3 %, présentent une sensibilité limite à la pénicilline, 20, soit 43,4 % à la spiramycine et 13, soit 28,2 % à la rifampicine ; vis à vis de la kanamycine et du sulfathiazol, toutes les souches seraient sensibles (tableau XI).

A Alger par contre, nous avons trouvé que 94,1 % des souches étaient sensibles à la pénicilline et 98 % à la rifampicine. Plus de 90 % avaient une sensibilité limite aux sulfamides, en particulier au sulfathiazol, et 76,4 % à la kanamycine (tableaux IX et X).

- Différents facteurs peuvent expliquer les discordances entre les résultats obtenus à Alger et à Copenhague : méthodes, milieux, inoculum, lecture et interprétation.

a) Méthodes

Tandis qu'à Alger, les tests de sensibilité aux antibiotiques considérés ont été effectués par la méthode de dilution en milieu gélosé, à Copenhague, la pénicilline G et la rifampicine ont été testées selon le même principe, mais la kanamycine et le sulfathiazol l'ont été par la méthode de diffusion.

S'il est permis, à propos de la kanamycine et du sulfathiazol, de discuter des résultats obtenus par deux méthodes différentes qui pourraient, à la rigueur, justifier des interprétations différentes, il n'en est pas de même en ce qui concerne la pénicilline G et la rifampicine, toutes deux testées par la technique de dilution en milieu gélosé. Par conséquent, la méthode seule ne suffit à expliquer les divergences observées.

b) Milieux

L'influence des milieux sur les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques est bien connue (8). Certains milieux, par exemple, contiennent des peptones qui sont toxiques pour N. gonorrhoea et empêchent sa multiplication, pouvant ainsi laisser croire à de "fausses sensibilités". A l'inverse, certaines protéines éventuellement présentes dans les milieux peuvent entraver l'action des sulfamides ou de la pénicilline. Ainsi, l'acide para aminobenzoïque que l'on trouve en quantité relativement importante dans certaines peptones peut neutraliser les sulfamides par inhibition compétitive ; de même, la pénicilline peut être fixée ou détruite par des substances présentes dans les protéines du milieu. Dans l'un et l'autre de ces deux cas, on observerait de "fausses résistances" (8, 77).

Les milieux utilisés à Alger et à Copenhague pour tester la sensibilité aux antibiotiques et sulfamides étant différents, nous pensons que là pourrait se trouver une explication des discordances observées.

- Les autres facteurs que constituent l'inoculum, les méthodes de lecture et d'interprétation ne sont pas pourtant à négliger.

c) Inoculum

En ce qui concerne l'inoculum, il a été établi qu'il ne jouait pas de rôle majeur dans la méthode de dilution en milieu gélifié pour autant qu'il atteigne un minimum de 10^6 à 10^7 germes (8, 63). Donc, il n'est pas intervenu dans les interprétations de la sensibilité à la pénicilline G et à la rifampicine, toutes deux mesurées par cette méthode ; mais il

pourrait expliquer les divergences notées à propos de la kanamycine et du sulfathiazol testées à Alger par la méthode de dilution et à Copenhague par la méthode de diffusion et où les résultats varient selon le nombre de germes ensemencés sur le milieu.

d) Lecture

La lecture des tests de sensibilité aux antibiotiques par la méthode de diffusion ayant été identiques à Alger et à Copenhague, nous discuterons seulement de la lecture des tests effectués par la méthode de dilution (63).

A Copenhague, on détermine, dans les tests de sensibilité de N. gonorrhoea aux antibiotiques, la concentration minima qui inhibe 50 % de la population d'une souche donnée (CMI_{50}). A Alger, nous avons retenu la concentration minima qui inhibe les 100 % de la population d'une souche (CMI_{100}). A. REYN considère que la CMI_{100} représente environ le double de la CMI_{50} (69). La conversion en CMI_{100} des résultats obtenus sur nos souches à Copenhague laisse subsister de très grosses divergences : certaines souches résistantes pour le Centre International des Neisseria sont pour nous sensibles.

Par ailleurs, s'il est établi que la CMI_{50} constitue une méthode de lecture plus précise en milieu liquide (8), nous nous demandons si elle est valable en milieu solide. En effet, dans nos tests, nous n'avons jamais constaté la moindre gradation dans la sensibilité ; en d'autres termes, une souche dont la population comportait par exemple 100 % de germes résistants à 0,002 µg/ml d'un antibiotique donné comportait 100 % de germes sensibles à 0,004 µg/ml du même antibiotique.

e) Interprétation.

La concentration inhibitrice peut être comparée à une zone de taux thérapeutiques déterminée expérimentalement. Si la concentration inhibitrice est inférieure à cette zone, la souche peut être dite sensible. Si la concentration inhibitrice se situe dans cette zone, la souche peut être dite limite. Si la concentration minima inhibitrice est supérieure à cette zone, la souche est dite résistante.

Les différences d'interprétations à Alger et à Copenhague concernant la pénicilline G, la rifampicine, la kanamycine et le sulfathiazol pourraient être dues à un choix de zones thérapeutiques différentes.

Le tableau XVII montre à propos de ces quatre antibiotiques que les différences d'interprétation, négligeables pour la pénicilline G et le sulfathiazol, sont significatives pour la rifampicine et la kanamycine.

Tableau XVII : Comparaison entre les interprétations d'Alger et de Copenhague pour la pénicilline, la rifampicine, la kanamycine et le sulfathiazol

Interprétation	Villes *	Peni UI/ml	Rifampicine µg/ml	Kanamycine µg/ml	Sulfamides µg/ml
Sensible	A	≤0,25	≤4	≤4	≤10
	C	≤0,18	≤0,5	≤30	≤30
Limite	A	≥0,25	≥4-32	4-32	10-200
	C	≥0,18	≥0,5	30-100	30-200
Résistant	A	-	-	>32	>200
	C	-	-	>100	>200

* A = Alger

C = Copenhague

C'est ainsi que les souches de N. gonorrhoea sont jugées sensibles à la Rifampicine lorsque la concentration minima inhibitrice est inférieure à 0,5 ug/ml à Copenhague et à 4 ug/ml à Alger.

De même les concentrations critiques "limites" de kanamycine se situent entre 4 et 32 ug/ml pour Alger et entre 30 et 100 ug/ml pour Copenhague. En-dessous de ces zones, la souche est dite sensible; en-dessus, elle est dite résistante.

Si l'on interprète les concentrations minima inhibitrices obtenues à Copenhague sur les mêmes bases qu'à Alger (8), on constate que les taux de sensibilité se rejoignent : on passe de 71,7 % de souches sensibles à la rifampicine (tableau XI) à 100 % contre 98 % à Alger (tableau IX) et de 99 % de souches sensibles à la kanamycine (tableau XI) à 15 % contre 13,7 % à Alger (tableau IX).

Par conséquent, s'agissant de la kanamycine et de la rifampicine, les discordances entre nos résultats et ceux d'A. REYN tiennent à une interprétation différente.

En ce qui concerne ces deux antibiotiques, il nous semble plus juste d'accorder foi à nos chiffres, car il est incompréhensible de trouver des souches à sensibilité diminuée à la rifampicine (sensibilité limite), quand on sait que cet antibiotique n'est pas commercialisé en Algérie ; à l'inverse, il est aussi inattendu d'observer des souches entièrement sensibles à la kanamycine, lorsqu'on connait d'une part l'usage très fréquent qui en est fait dans le traitement des gonococcies et d'autre part l'existence bien établie de résistances croisées entre cet antibiotique et la streptomycine vis à vis de laquelle le tiers des souches isolées est résistant.

Au total, les discordances observées entre les résultats des tests de sensibilité effectués à Alger et au Centre International des Neisseria de Copenhague, résultent de deux facteurs essentiels :

1) une différence d'interprétation des concentrations inhibitrices en ce qui concerne la rifampicine et la kanamycine ;

2) une différence de milieux de culture. A ce sujet, il est remarquable de noter que les grosses discordances qui subsistent portent sur la pénicilline G et le sulfathiazol lesquels sont facilement inhibés par certains des constituants du milieu utilisé. Si la pénicilline, par exemple, est détruite par un enzyme présent dans le milieu, la souche apparaîtra plus ou moins résistante. Cela pourrait expliquer éventuellement les résultats obtenus à Copenhague. Les mêmes remarques peuvent s'appliquer aux sulfamides : si le milieu recèle de l'acide para amino benzoïque, il inhibera leur action et les souches apparaîtront "faussement résistantes". Ce fut probablement le cas pour le milieu utilisé à Alger.

2. Corrélations entre les résistances aux antibiotiques de N. gonorrhoea

A. REYN a observé des corrélations entre les résistances à différents antibiotiques des souches de N. gonorrhoea isolées à Alger. Ses résultats "montrent une forte tendance vers la "multirésistance" ; plus précisément, si des souches sont moins sensibles à la pénicilline, elles seront aussi résistantes à la streptomycine et, dans 50 % des cas, limites à la tétracycline. Les résultats de l'érythromycine et de la spiremycine sont étroitement reliés et 11 sur 12 souches qui sont moins sensibles à la rifampicine sont également moins sensibles à la pénicilline" (*).

Des résistances croisées s'observent entre antibiotiques d'une même famille chimique ; c'est le cas de l'érythromycine et de la spiramycine qui sont des Macrolides.

(*) communication personnelle

Les autres relations signalées peuvent avoir pour explication des erreurs thérapeutiques (posologie insuffisante par exemple) qui entraînent ultérieurement des résistances primaires multiples ; elles peuvent être aussi le fait d'une résistance extra chromosomique, du type de celle que l'on constate chez les Entérobactéries ou les Staphylocoques, résistance qui intéresse simultanément de nombreux antibiotiques. Cela reste à démontrer.

Pour notre part, les corrélations entre résistances que nous avons observées concernent essentiellement des antibiotiques appartenant aux mêmes familles chimiques, à savoir streptomycine et kanamycine (Oligosaccharides), et dans une moindre mesure, spiramycine et érythromycine (Macrolides).

C O N C L U S I O N

Au terme de ce travail, il nous semble utile d'apporter des conclusions pratiques sur un triple plan : diagnostic, thérapeutique et épidémiologique.

I - Diagnostic.

a) Dans tous les cas de gonococcie aiguë, un examen microscopique après coloration de Gram suffit pour confirmer bactériologiquement le diagnostic, car il donne des résultats comparables à ceux de la culture. Il est d'une part plus fidèle que l'examen après coloration au bleu de méthylène, qui donne lieu à trop d'erreurs par excès, et aussi sensible, dans ces cas, que l'examen en immunofluorescence. Le diagnostic bactériologique d'une gonococcie aiguë est donc à la portée de tout laboratoire et même de tout médecin généraliste disposant d'un microscope.

b) Dans tous les cas chroniques, une culture à la fois sur milieu sélectif et sur milieu non sélectif doit être pratiquée afin de confirmer leur étiologie gonococcique. Bien que plus sensible que la culture, l'examen en immunofluorescence n'est pas pratique : il est onéreux et exige un personnel très qualifié. Lorsque la culture n'est pas possible, ce qui est la règle, le diagnostic de gonococcie chronique ne peut être que suspecté et jamais affirmé.

c) D'une manière générale, le germe causal (bactérie ou parasite) doit toujours être mis en évidence,soit par simple examen après coloration de Gram, soit, en cas de résultat douteux ou négatif, par culture, car toutes les urétrites et notamment les chroniques ne sont pas toujours d'origine gonococcique.

Ces premières conclusions, tirées de notre étude, rejoignent celles de différents experts (60, 70).

II - Traitement.

a) L'étude des tests de sensibilité aux antibiotiques des souches de Neisseria gonorrhoea isolées à Alger a abouti à des résultats parfois différents à Alger et à Copenhague. Les discordances observées tiennent à des différences dans les méthodes de lecture, dans les milieux utilisés et dans l'interprétation. Cela met en évidence la nécessité, soulignée par tous les experts, d'une standardisation des techniques d'antibiogrammes appliquées aux gonocoques.

b) En tenant compte néanmoins des résultats d'Alger et de Copenhague, la situation actuelle, du point de vue sensibilité aux antibiotiques des gonocoques isolés, se présente ainsi :

- 25 à 36 % des souches de N. gonorrhoea isolées à Alger sont résistantes in vitro à la streptomycine et 10 % à la kanamycine ;

- la pénicilline, malgré les résultats différents obtenus à Copenhague et à Alger, est encore efficace contre le gonocoque. Aucune résistance n'a été constatée et les souches qui présentent une sensibilité limite peuvent être atteintes en augmentant les doses ;

- les 99 % des souches isolées sont sensibles à tous les autres antibiotiques.

c) Compte tenu de ces résultats, une ligne de conduite thérapeutique simple peut être tracée :

- éviter l'utilisation de la streptomycine et de la kanamycine à cause de la résistance observée, de leur toxicité et de leur utilité plus grande dans le traitement d'infections parfois plus graves. Il en est évidemment de même de la rifampicine, antibiotique extrêmement actif mais très onéreux, qui doit être exclusivement réservé à certains cas bien précis de tuberculose à bacilles multi-résistants ;

choisir, parmi les autres antibiotiques, celui qui semble efficace sur le plan individuel et qui n'entraîne pas de conséquences sur le plan de la collectivité en sélectionnant des souches bactériennes, autres que le gonocoque, en particulier des souches de Staphylocoques ou d'Entérobactéries, multi-résistantes (cas du chloramphénicol, de la tétracycline ou de l'ampicilline).

A notre avis, la pénicilline, sous forme retard notamment, à condition de tenir compte des problèmes posés par une syphilis associée, ou un Macrolide tel la spiramycine (rovamycine) administrés à dose et pendant un temps suffisants, répondent à ces critères.

III - Epidémiologie.

Notre travail s'étant limité à un petit nombre de souches (560) de la région algéroise, il est difficile de tirer des conclusions épidémiologiques. De plus, il n'existe pas de statistique valable en Algérie ; tout reste à faire dans ce domaine qui pose de nombreux problèmes ayant trait aux difficultés de dépister l'agent de contamination, à l'utilisation abusive des antibiotiques parfois sans prescription, et à la recrudescence de la prostitution clandestine. Aussi, nous ne pouvons que reprendre à notre compte les recommandations de l'OMS qui soulignent (60) :

- "que toutes les administrations fassent figurer les infections gonococciques sur la liste des maladies à déclarer aux fins des statistiques sanitaires ; que la déclaration systématique de ces infections par les médecins privés et par tous les établissements soit rendue obligatoire ; que toutes les infections gonococciques nouvelles, quel que soit leur stade ou leur type, soient déclarées par âge et par sexe, afin qu'on puisse en apprécier de façon plus exacte la fréquence d'apparition, les tendances dans les groupes d'âges jeunes et les fréquences respectives chez les hommes et chez les femmes ;

- qu'une étude sur la fréquence et l'étiologie des infections gonococciques soit faite dans le pays ;

- que les administrations sanitaires intensifient leurs programmes de lutte contre les maladies vénériennes en général en tenant compte de la fréquence croissante des infections gonococciques ; que les activités épidémiologiques de dépistage et de traitement des contacts soient intensifiées à l'échelon national ;

- que les médecins, les centres de santé ruraux, les centres d'hygiène maternelle et infantile, les dispensaires et les hôpitaux, puis-

sent faire appel aux services d'un laboratoire central de la Santé publique pour confirmer leur diagnostic clinique d'infection gonococcique présumée ; que ces services comprennent, pour commencer, l'identification primaire du gonocoque par examen microscopique (Gram) des frottis envoyés au laboratoire central ; que le laboratoire fournisse ultérieurement un milieu de transport et se charge, d'une part de faire des cultures pour confirmer les diagnostics quand les services cliniques et les services de Santé publique se seront suffisamment développés, et d'autre part de suivre l'évolution de la résistance de N. gonorrhoea aux antibiotiques.

A N N E X E

Tableau VIII – COMPARAISON entre les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques et sulfamides obtenus à Alger (A) et Copenhague (C)

N° des souches	Pénicilline UI/ml		Streptomycine		Tétracycline		Spiramycine		Kanamycine		Rifampicine		Chloramphénicol		Erythromycine		Sulfathiazol		Sulfadiazine	Sulfafurazol	Sulfamethoxypyridazine	Acide Nalidixique	Fléstinomycine	Céphalotine	Céphaloridine	Ampicilline
	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C	A	A	A	A	C	A	A	A	A
1	1-4	0.032	>50	>32	3.20	2	3.20	4	++	>32	0.5	0.5	++	4	++	0.125	+++	10	50	50	200	+++	8	2	0.5	0.5
458	2,82	0.064	>50	>32	2.26	1	2,26	1	++	16	0.354	0.5	+++	2	++	0.25	+++	50	100	50	50	+++	0.25	0.7	0.7	0.125
3:4	2.82	0.064	>50	8	2.26	2	4.52	2	++	32	0.5	0.5	+++	2	+	2	+++	50	50	50	100	+++	0.5	0.5	2	0.125
152	2.82	0.064	>50	4	2.26	1	3.20	1	++	32	0.5	1	+++	0,5	++	0.125	+++	50	50	50	50	+++	0.25	0.5	0.25	0.125
454	2.82	0.064	>50	4	1.04	1	3.20	1	++	16	0.5	0.5	+++	1	++	0.125	+++	—	—	—	—	+++	0.2	0.25	0.25	0.125
355	2	0.125	>50	>32	1.6	2	2 26	2	++	32	0.354	0.5	+++	4	++	2	+++	50	100	100	100	+++	8	16	0.2	1
446	2	0.064	>50	>32	2.26	1	3.20	8	++	16	0.5	0.5	+++	1.5	+++	<0.125	+++	50	50	50	100	+++	2.5	1	0.5	0.5
27E	2	0.125	>50	>32	1.6	0.5	2 26	2	++	16	0.5	0.250	+++	2	++	1	+++	—	—	—	—	+++	0.5	2	3	1
447	2	0.032	>50	>32	3.2	1	3.20	1	++	>32	0.5	0.5	+++	2	++	0.125	+++	—	—	—	—	+++	<0.125	0.25	0.4	2
361	2	0.008	>50	>32	1.6	0.5	2.26	1	++	>32	0.354	0.5	+++	2	++	0.25	+++	—	—	—	—	+++	2	2	3	0.5
4 B	1-2	0.125	50	>32	3.2	2	3.20	8	++	>32	0.5	1	++	2.5	++	0.25	+++	10	50	200	50	+++	0.125	1	1	0.5
456	1-0.5	0.004	<50	8	0.56	0.5	3.20	1	++	32	0.5	1	+++	3	++	0.125	+++	—	—	—	—	+++	0.5	0.25	0.20	0.5
506	1	0.008	50	8	0.80	0.125	2.26	1	++	8	0.354	1	++	2.5	++	0.25	+++	50	50	100	>200	+++	0.25	0.5	0.7	0.125
371	1	2	50	0.5	1.04	0.125	3.20	0.5	++	0.5	0.5	>4	+++	4	++	0.3	+++	10	50	50	100	+++	0.5	2.5	1	1
443	1	0.032	2	1	1.6	1	2.26	0.5	++	16	0.5	0.5	++	2	+++	<0.125	+++	50	200	100	200	+++	0.125	0.25	0.25	1
207	0.4	0.5	50	32	0.1	1	2.26	2	++	32	0.354	0.125	+++	1,5	++	0.25	+++	50	50	50	200	+++	0.125	0.25	0.25	0.125
2 B	0.5	0.016	50	32	3.20	1	3.20	1	++	16	0.5	0.5	+++	3	++	0.5	+++	10	50	10	50	+++	0.25	0.25	0.7	0.125
481	0.324	0.512	32	32	1.6	1	0.20	<0.5	++	32	1.032	<0.125	+++	1,5	+++	0.125	+++	—	—	—	—	+++	0.2	0.25	0.25	0.25
372	0.250	0.016	50	4	0.25	0.5	1.56	1	++	16	0.126	0.25	+++	2	+++	0.20	+++	—	—	—	—	+++	0.2	0.25	0.4	0.25
2	0.125	0.008	50	32	1.04	1	2.26	1	++	16	0.126	0.25	+++	8	+++	4	+++	50	100	100	200	+++	0.5	16	16	2
415	0.063	0.008	8	4	0.28	0.250	1.6	8	++	16	0.126	2	+++	2	+++	0.125	+++	—	—	—	—	+++	<0.125	0.25	0.25	0.125
374	0.062	0.064	<50	8	0.8	1	3.20	2	++	32	0.5	0.5	+++	2.5	+++	0.125	+++	100	50	50	200	+++	0.25	2	0.3	0.5
512	0.062	0.064	<50	2	0.28	0.5	0.56	0.5	++	16	0.126	0.125	+++	2	+++	0.2	+++	50	200	>200	200	+++	0.2	1	0.4	0.5
241	0.062	0.064	<50	4	0.40	0.5	0.80	1	++	16	0.176	0.5	+++	4	+++	1	+++	50	100	100	200	+++	0.5	1	2	1
3 B	0.062	0.064	50	2	0.56	0.5	3.20	2	++	32	0.354	0.25	+++	2	++	0.125	+++	10	50	50	100	+++	0.25	0.5	0.2	1
305	0.044	0.016	50	4	0.28	0.125	1.6	0.5	++	16	0.126	0.25	+++	2	+++	<0.125	+++	—	—	—	—	+++	0,125	0.5	0.25	0.5
159	0.044	0.064	50	4	0.28	0.5	0.56	<0,5	++	16	0.126	0.25	+++	2.5	+++	0.125	+++	10	100	50	50	+++	0,125	0.5	0.125	0.125
55c	0.044	0.032	<50	0.5	0.28	0.25	0.56	0.5	++	32	0.126	<0.125	+++	8	+++	0.25	+++	<1	1	10	50	+++	0.25	1	0.5	1
28c	0.044	0.032	<50	8	0.28	0.25	0.8	1	++	16	0.125	<0.125	+++	1	+++	0.125	+++	50	100	100	100	+++	0.125	0.125	0.125	<0.125
455	0.044	0.004	<50	0.5	0.40	0.5	0.8	<0.5	++	16	0.354	<0.125	+++	0.5	+++	<0.125	+++	10	—	—	—	+++	1	0.25	0.25	0.125
399	0.044	0.004	<50	8	0.28	0.25	0.8	<0.5	++	32	0.126	0.25	+++	2.5	+++	0.25	+++	10	50	50	50	+++	0.5	1	1	0.25
73 E	0.044	0.064	<50	8	1.04	1	0.8	1	++	16	0.176	0.25	+++	2	+++	0.25	+++	50	50	50	100	+++	0.125	0.25	0.125	0.125
415	0.0312	0.004	<50	16	0.28	0.5	1.6	1	++	2	0.176	0.25	+++	8	+++	1	+++	50	100	50	100	+++	1	2	3	0.7
512	0.0312	0.008	<50	8	0.28	<0.125	0.8	0.5	++	1	0.25	1	+++	2.5	+++	0.25	+++	10	10	50	50	+++	0.25	0.5	0.7	0.125
244	0.0312	0.125	<50	8	0.28	0.5	0.9	1	++	16	0.176	0.25	+++	3	+++	0.25	+++	50	50	50	100	+++	0.25	0.7	1	0.5
505	0.0312	0.064	<50	8	0.28	0.5	0.56	1	++	16	0.126	0.25	+++	4	+++	1	+++	50	50	50	100	+++	0.25	0.25	1	0.25
47C	0.0312	0.016	<50	0.5	<0.2	<0.125	0.56	0.5	+++	2	0.126	0.125	+++	1.5	+++	0.20	+++	—	—	—	—	+++	0.20	0.25	0,25	0.25
404	0.0312	0.004	<50	16	0.4	0.5	0.8	0.5	+++	4	0.126	0.25	+++	3	+++	0.125	+++	10	50	50	100	+++	0.125	0.5	0.2	2
2c	0.0312	0.004	<50	4	0.56	0.25	0.8	1	++	32	0.126	0.125	+++	3	+++	1	+++	—	—	—	—	+++	0.5	1	0.5	0.5
477 MF	0.0222	0.004	<50	8	0.4	0.25	0.8	<0.5	++	32	0.126	<0.125	+++	4	+++	0.25	+++	10	50	50	100	+++	2	2	1	1
161	0.0222	0.004	<50	4	0.4	0.5	0.8	2	+++	16	0.176	0.25	+++	2.5	+++	0.5	+++	10	10	10	50	+++	0.5	1	1	1
400	0.0222	0.001	<50	8	0.28	0.5	0.8	1	++	32	0.126	0.125	+++	3	+++	0.25	+++	10	100	50	50	+++	0.125	1	1	0.5
6c	0.0156	0.016	<50	32	0.4	1	1.12	05	++	2	0.126	0.25	+++	>64	+++	>16	+++	—	—	—	—	+++	>16	>64	>64	>32
433	0.0156	0.0256	<50	4	0.28	0.5	0,56	0.5	+++	32	0.126	0.25	+++	4	+++	0.125	+++	10	100	200	100	+++	0.5	0.25	1	0.25
450	0.0156	0.004	<50	8	0.28	0.25	0.56	0.5	+++	32	0.126	0.25	+++	2	+++	0.3	+++	10	50	50	50	+++	0.125	0.25	0.25	0.25
55	0.0156	0.016	<50	4	0.4	0.25	0.8	<0.5	+++	16	0.126	<0.125	+++	2	+++	0.125	+++	50	100	100	100	—	0.25	0.5	0.25	0.125
507	—	0.032	—	16	—	<0.125	—	0.5	—	32	—	1	—	3	—	0.20	+++	10	50	50	100	—	0.2	0.25	0.25	0.125
522	—	0.002	—	16	—	0.125	—	0.5	—	1	—	1	—	8	—	1	+++	1,	10	1	50	—	1	3.5	4	2
517	—	0.064	—	32	—	4	—	1	—	>32	—	1	—	8	—	0.25	+++	1	50	50	50	—	0.5	3.5	1	0.7
500	—	0.002	—	0.5	—	0.25	—	1	—	1	—	0.5	—	4	—	1	—	—	—	—	—	—	0.5	50	0.4	0.125
521	—	0.008	—	8	—	<0.125	—	<0.5	—	8	—	1	—	8	—	0.2	—	—	—	—	—	—	1	16	4	8

Interprétations des résultats exprimés en concentration minima inhibitrice

1) Selon Copenhague (A. REYN)

- Pénicilline : Limite : CMI ⩾ 0,176 UI/ml
- Streptomycine : Limite : CMI ⩾ 50 µg/ml
- Tétracycline : Limite : CMI ⩾ 2,26 µg/ml
- Spiramycine : Limite : CMI ⩾ 1,90 µg/ml
- Erythromycine : Limite : CMI ⩾ 1,90 µg/ml

S : +++	⩽10	⩽ 2	⩽0,2	⩽8	⩽8
M S : ++	⩾10-30	⩾ 2-10	⩾0,2-2	⩾ 8-20	⩾8-30
Limite: +	> 30-200	> 10-100	> 2-20	> 20-50	> 30-100
R : 0	> 200	> 100	> 20	> 50	> 100
	Sulfathiazol	Chloramphénicol	Erythromycine	Ac. nalidixique	Kanamycine

2) Selon Alger (CHABBERT)

- Pénicilline	: S ⩽ 0,250	L ⩾ 0,250-8	R > 8
- Ampicilline	: S ⩽ 2	L ⩾ 2-16	R > 16
- Cephalotin	: S ⩽ 4	L ⩾ 4-32	R > 32
- Cephaloridine	: S ⩽ 4	L ⩾ 4-32	R > 32
- Streptomycine	: S ⩽ 4	L ⩾ 4-32	R > 32
- Kanamycine	: S ⩽ 4	L ⩾ 4-32	R > 32
- Tetracycline	: S ⩽ 2	L ⩾ 2-16	R > 16
- Erythromycine	: S ⩽ 1	L ⩾ 1-4	R > 4
- Spiramycine	: S ⩽ 2	L ⩾ 2-8	R > 8
- Pristinamycine	: S ⩽ 1	L ⩾ 1-8	R > 8
- Chloramphénicol	: S ⩽ 8	L ⩾ 8-32	R > 32
- Rifampicine	: S ⩽ 4	L ⩾ 4-32	R > 32
- Sulfamides	: S ⩽ 10	L ⩾ 10-200	R > 200

"Une souche sensible est une souche qui peut être atteinte par un traitement à dose habituelle par voie générale".

"Une souche limite est une souche qui peut être atteinte par un traitement local, par une augmentation des doses par voie générale, ou par une concentration physiologique particulière (urine, bile, etc...)".

"Une souche résistante est une souche qui ne répondra probablement pas quel que soit le type de traitement".

B I B L I O G R A P H I E

1.* AMIES (C.R.) and GARABEDIAN (M.).- An Easily prepared selective medium for the cultivation of N. gonorrhoea. British J. Vener. Dis., 1967, 43 n° 2, 137-139.

2. AMIES (C.R.).- Sensitivity of N. gonorrhoea to Penicillin and other antibiotics. Studies carried out in Toronto during the period 1961 to 1968. Brit. J. Vener. Dis., 1969, 45 n° 3, 216-222.

3. BONNEFOI (A.), GRABAR (J.) et LE MINOR (L.).- Vaccinothérapie et sérothérapie antigonococciques. "Méthode d'isolement et d'identification du gonocoque. Milieux de conservation". Ann. Inst. Pasteur Fr., Mars 1947, 73, 286-290.

4. BROWN (L.), COPELOFF (M.B.) and PEACOCK (W.L.).- Study of gonorrhoea in treated and intreated asymptomatic women as determined by fluorescence antibody and culture methods. Am. J. Obst. Gynec., 1962, 84, 753-757.

5. BROOKES (R.) and HEDEN (G.).- Dense cultures of N. gonorrhoea in liquid medium. Appl. Microbiol., 1967, 15 n° 2, 219-223.

6. BLUMBERG (N.).- Penicillin resistant gonorrhoea. J. Urol. USA, 1969, 101 n° 1, 106.

7. CARPENTER (C.M.) M.D.- Gonococcal resistance to Penicillin in the light of recent litterature. Bull. Org. Mond. Santé, 1961, 24, 321-326.

8. CHABBERT (Y.A.).- L'antibiogramme. Ed. La Tourelle, 1963.

9. COBBOLD (R. Jr), MORRISON (G.D.) and WILLCOX (R.R.).- Treatment of N. gonorrhoea with single oral doses of Rifampicin. Brit. Med. J., 1968, 4 n° 5632, 681-682.

10. CHACKO (C.N.) and NAIR (G.M.).- Sero-diagnostic with a micro-precipitin test using a lipopolysaccharide antigen from N. gonorrhoea. Brit. J. Vener. Dis., 1969, 45 n° 1, 33-39.

* Bibliographie classée par ordre alphabétique et par ordre chronologique des dates de publication.

11. DEBRAY (Jr) et LE MINOR (L.).- La culture du gonocoque dans le diagnostic de la blennorragie chez la femme. Presse méd. fr., 17 Janvier 1948, 36-56.

12. DEACON (W.E.), PEACOCK (W.C.), FREEMAN (E.M.) and HARRIS (A.).- Identification of N. gonorrhoea by means of fluorescent antibodies. Proc. Soc. Exp. Biol., 1959, 101, 322-325.

13. DOOR (A.K.) and MILLER (C.P.).- A study on bacterial proteins with special considerations of gonococcus and meningococcus. J. Exp. Med., 1959, 63-74.

14. DEACON (W.E.), PEACOCK (W.L.), FREEMAN (E.M.), HARRIS (A.) and BUNCH (W.L.).- Fluorescent antibody tests for detection of the gonococcus in women. Publ. Hlth Rep. (Wash.), 1960, 75, 125-129.

15. DEACON (W.E.).- Fluorescent antibody method for N. gonorrhoea identifications. Bull. Org. Mond. Santé, 1961, 24, 349-355.

16. DUREL (P.), ROIRON (V.) et DELOUCHE (L.).- Problèmes posés par l'emploi de la Streptomycine dans le traitement de la gonococcie. Bull. Org. Mond. Santé, 1961, 24, 343-348.

17. DANIELSSON (D.).- A comparison between the fluorescent antibody technique and conventional methods of detecting N. gonorrhoea in men and women. Acta Derm. Vener. (Stock), 1963, 43, 511.

18. DIFCO Laboratory : Fluorescent antibody. Reagents and Procedures for rapid direct precise sensitive FA techniques.

19. DOMESCIK (G.) and MAC LONE (D.G.) coll.- Use of a single oral dose of doxycycline monohydrate for treating gonorrhoea urethritis in men. Publ. Health Rep. Wash., 1969, 84, 182-183.

20. ERICSSON (H.), REYN (A.) and BENTZON (M.W.).- Comparative investigation with dilution and diffusion methods of gonococcal sensitivity to antibiotics. Acta Pathol. Microbiol. Scand., Suppl. 1962, 154, 293-294.

21. FISCHNALLER (J.E.), PEDERSEN (A.H.B.), RONALD (A.R.), BONIN (P.) and TRONCA (E.L.).- Kanamycin sulfate in the treatment of acute gonorrhoea urethritis in men. J. Amer. Med. Ass., 1968, 203 n° 11, 909-912.

22. FLUKER (J.L.) and HEWITT (A.B.).- High dosage procaïn penicillin combined with ampicillin in the treatment of gonorrhoea after failure with standard procaïn penicillin dosage. Brit. J. Vener. Dis., 1969, 45 n° 4, 317-320.

23. GUTHE (T.).- Failure to control gonorrhoea. Bull. Org. Mond. Santé, 1961, 24, 297-306.

24. HARRIS (A.), DEACON (W.E.), TIEDMANN (J.) and PEACOCK (W.L.).- FLuorescent antibody method in detecting gonorrhoea in æsymptomatic female. Publ. Hlth Rep. Wash., 1961, 76, 93-96.

25. JAWETZ (E.), MELNICK (J.L.) and ADELBERG (E.A.).- Review of Medical Microbiology. Blackwell Scientific publications OXFORD, 1966, 7e Ed., 116-117.

26. KELLOGG (D.S. Jr) and DEACON (W.E.).- A new rapid immunofluorescent staining technique for identification of Treponema Pallidum and N. gonorrhoea. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.), 1964, 115, 963-965.

27. KIESEWALTER (D.).- Etude sur le traitement de la blennoragie dans 572 cas. Dtsche Cesundh. Wes., 1968, 23 n° 30, 1048-1412.

28. LE MINOR (L.).- Une modification du milieu de PEIZER et STEFFEN pour l'isolement du gonocoque. Ann. Inst. Pasteur Fr., Octobre 1948, 75, 381-382.

29. LE MINOR (L.), LE MINOR (S.) et COMBES (R.).- Valeur du milieu Moffet Young Stuart pour le transport des prélèvements en vue de la culture du gonocoque. Ann. Inst. Pasteur Fr., 1949, 77 n° 3, 327-329.

30. LIND (I.).- Combined use of fluorescent antibody technique and culture on selective medium for the identification of N. gonorrhoea. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1969, 76, 279-287.

31. MOLLER (V.) and REYN (A.) M.D.- A new solid medium for the isolation of N. gonorrhoea. Bull. Org. Mond. Santé suisse, 1965, 32 n° 4, 471-476.

32. MORRISSON (G.D.), COBBOLD (R. Jr), BOR (S.), SPITZER (R.J.), FOSTER (D.N.) and WILLCOX (R.R.).- Treatment of gonococcal urethritis with single injection of 2-4 mega units of aqueous procaïn Penicillin. Brit. J. Vener. Dis., 1968, 44 n° 4, 319-323.

33. MAELAND (J.A.).- Serological cross reactions of aqueous ether extracted endotoxin from N. gonorrhoea strains. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Danem., 1969, 77 n° 3, 505-512.

34. MARTIN (J.E. Jr), LESTER (A.), KELLOG (D.S. Jr) and THAYER (J.D.).- IN vitro susceptibility of N. gonorrhoea to nine antimicrobial agents. Appl. Microbiol. USA, 1969, 18 n° 1, 21-23.

35. MIGLIANO (L.).- Traitement de la blennorragie par une dose unique de Rimactan. Hospital Bras. Sao Paulo, 1969, 75 n° 1, 297-300.

36. MODDE (H.) et KRECH (U.).- Gonokokkenkraukungen aus Klinisch-bakteriologhisher Sicht. Schweiz Med. Wschr., 1969, 99 n° 35, 1242-1245.

37. MORTON (N.) M.D.- Comparative study of two therapics of N. gonorrhoea. Publ. Hlth Rep., Novembre 1969, 84 n° 11, 980-984.

38. MOTZ (G.) and MOTZ (C.).- Réflexions à propos du diagnostic et du traitement de la blennorragie masculine. Gaz. Med. Fr., 1969, 75 n° 19, 3967-8, 3971-2.

39. MOURER (L.H.) and SCHNEIDER (T.J.).- Gonococcal urethritis in mâles in Viet-Nam. Three penicillin regimens and one tetracyclin regimen. J. Amer. Med. Ass., 1969, 207 n° 5, 946-948.

40. MULLER (P.), MULLER (T.) and STORCK.- Thérapie des Gonorrhoea. Rev. thérapeut. suisse, 1969, 26 n° 2, 75-80.

41. NICOL (C.S.), RIDLEY (M.) and SYMONDS (M.A.E.).- The problem of Penicillin Resistant gonococci. Brit. J. Vener. Dis., 1968, 44 n° 4, 315-318.

42. OLIVIER (H.R.).- Traité de Biologie appliquée. Tome II : les diagnostics microbiologiques, 1963.

43. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE.- Cours sur les techniques d'immunofluorescence. Inst. Pasteur Paris, 1968.

44. PEIZER (L.R.).- Identification of the gonococcus from cultures and the effect of certain animal sera on the fermentations of the gonococcus. J. Bact. Baltimore, Juin 1942, 43, 733-738.

45. PARRINO (P.S.), O'SHOUGHNESSY (E.J.) and WHITE (J.D.).- Standardization of diagnostic methods for gonococcal infections. Amer. J. Publ. Hlth, 1955, 45 n° 4, 457-463.

46. PEACOCK (W.L.), MARTIN (J.E.), THAYER (J.D.) and SCHROETER (A.L.). Immunofluorescent detection of serum antibodies to the gonococcus among meningococcal carriers. Antimicrob. Agents Chemoth., 1964, 649-651.

47. PEACOCK (W.L.) and THAYER (J.D.).- Direct FA technique using flazo-orange counterstain in identification of N. gonorrhoea. Pub. Hlth Rep. Wash., 1964, 79, 1119-1122.

48. PRICE (E.V.).- Field Evaluation of fluorescent antibody technique with detection of the gonococcus in the female. Ann. Symp. recent Advance Study Venereal Diseases, 1964, 14th Houston Tex.

49. POTUZNICK (V.) and HAUSNER (O.).- Further improvement of a selective medium with antibiotics for the activation of N. gonorrhoea (Preliminary Report). J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., Czechosl., 1968, 12 n° 2, 240.

50. PEACOCK (W.L. Jr) and SCHMALE (J.D.).- Toxic constituants of N. gonorrhoea. Nature, G.B., 1969, 221, n° 5182, 760-761.

51. POTUZNIK (V.) and HAUSNER (O.).- A selective medium with Lyncomycin and Colistin in isolation of N. gonorrhoea and N. meningitidis. J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol., Czechosl., 1969, 13 n° 3, 366-373.

52. Rapport technique de l'OMS. Comité d'Experts des Maladies vénériennes, Mai 1950, n° 14.

53. Rapport technique de l'OMS. Lutte antivénérienne aux USA d'Amérique, Mai 1950, n° 15.

54. Rapport technique de l'OMS. Comité d'Experts des Maladies vénériennes, Avril 1951, n° 33.

55. Rapport technique de l'OMS. Comité d'Experts des Maladies vénériennes, Mai 1953, n° 63.

56. Rapport technique de l'OMS. Comité d'Experts des Maladies vénériennes et des Tréponématoses, 1954, n° 79.

57. Rapport technique de l'OMS. Comité d'Experts des Maladies vénériennes, 1960, n° 190.

58. REYN (A.) and BENTZON (M.W.).- Possible effects of antibiotique treatment on the sensitivity and growth requirements of N. gonorrhoea. Bull. Org. Mond. Santé suisse, 1961, 24 n° 3, 333-342.

59. RANTASALO (I.), TAMMILEHTO (R.) and WALLENIUS (J.O.).- Sensitivity of gonococci to antibiotics in vitro and in vivo. Acta Dermato. Venereol. Suède, 1962, 42 n° 5, 377-385.

60. Rapport technique de l'OMS. Comité d'Experts des infections gonococciques, 1963, n° 262.

61. REYN (A.).- Current problems in the diagnostic and therapic of N. gonorrhoea from the laboratory point of view. Acta Dermato. Venereol., 1963, 43 n° 4, 380-399.

62. REYN (A.).- Transactions of the 12th International Congress of Dermatology, Washington D.C., 1963, vol. 2, 926.

63. REYN (A.), BENTZON (M.W.) and ERICSSON (H.).- Comparative investigations of the sensitivity of N. gonorrhoea to Penicillin. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica, 1963, 57, 235-255.

64. REYN (A.), BENTZON (M.W.) and MOLLER (A.).- Determination of the sensitivity of N. gonorrhoea to Penicillin performed of solid media of different composition. Bull. Org. Mond. Santé Suisse, 1965, 32 n° 4, 503-519.

65. REYN (A.), BENTZON (M.W.), THAYER (J.D.) and WILKINSON (A.E.).- Results of comparative experiments using different methods for determining the sensitivity of N. gonorrhoea to Penicillin G. Bull. Org. Mond. Santé Suisse, 1965, 32 n° 4, 477-502.

66. RAJKA (G.).- Treatment of gonococcal patients with intolerance to Penicillin. Acta Dermato. Venereol. Suède, 1968, 48 n° 5, 532.

67. REES (E.) and ANNELS (E.H.).- Gonococcal Salpyngitis. Brit. J. Vener. Dis., 1969, 45 n° 3, 205-215.

68. REISING (G.), SCHMALE (J.D.), DANIELSON (D.G.) and THAYER (J.D.).- Reactivity of two selected antigens of N. gonorrhoea. Appl. Microbiol. USA, 1969, 18 n° 3, 337-339.

69. REYN (A.).- Antibiotic sensitivity of gonococcal strains isolated in the South East Asia and Western Pacific regions in 1961-8. Bull. Org. Mond. Santé, 1969, 40, 257-262.

70. REYN (A.).- Recent developments in the Laboratory. Diagnosis of gonococcal infections. Bull. Org. Mond. Santé, 1969, 40, 245-255.

71. REYN (A.) and BENTZON (M.W.).- Relationships between the sensitivities in vitro of N. gonorrhoea to Spiramycin-Penicillin-Streptomycin-Tetracyclin and Erythromycin. British J. of Venereal Disease, 1969, 45 n° 3.

72. SIBOULET (A.).- Gonococcies. Encyclopédie médico-chirurgicale, 1965.

73. SOMMERVILLE (R.G.).- An improved method for the direct immunofluorescent identification of N. gonorrhoea. Bull. Org. Mondi Santé SUisse, 1968, 39 n° 6, 942-943.

74. SPITZER (R.J.) and WILLCOX (R.R.).- Streptomycin in the treatmcnt of N. gonorrhoea in London in 1966. Acta Dermato. Venereol. Suède, 1968, 48 n° 5, 537-541.

75. SCHMALE (J.D.), DANIELSON (D.G.), SMITH (J.F.), LEE (L.) and PEACOCK (W.L.).- Isolation of an antigen of N. gonorrhoea involved in the human immune response to gonococcal infection. J. Bacteriol. USA, 1969, 99 n° 2, 469-471.

76. SMITH (D.O. Jr) and OSICK (P.).- Erythromycin in the treatment of acute gonococcal urethritis in mâles. Current Therapeut. Res. USA, 1969, 11 n° 1.

77. THAYER (J.D.), FIELD (F.W.), PERRY (M.I.), MARTIN (J.E.) and GARSON (W.).- Surveillance studies of N. gonorrhoea sensitivity to Penicillin and nine other antibiotics. Bull. Org. Mond. Santé, 1961, 24, 327-331.

78. THAYER (J.D.), MARTIN (J.E.) and PEACOCK (W.L.).- Further studies with a selective medium for cultivating N. gonorrhoea. Brit. J. Vener. Dis., 1965, 41 n° 3, 199-201.

79. THAYER (J.D.) and MARTIN (J.E.).- Improved medium selective for cultivation of N. gonorrhoea and N. méningitidis. Publ. Hlth Rep. USA, 1966, 81 n° 6, 559-562.

80. VOLLENWEIDER (L.).- Techniques modernes de culture du gonocoque. Ann. Biol. Clin. Fr., Juillet-Septembre 1946, 4, 203-205.

81. VANDERKERKOVE (M.), CAUSSE (G.) et LAPEYSSONNIE (L.).- Diagnostic au laboratoire des méningococcies. Rev. Hyg. Méd. soc., 1969, 17 n° 7, 613-622.

82. WILLCOX (R.R.) M.D.- Epidemiological aspects of gonococcal infections. Bull. Org. Mond. Santé, 1961, 24, 357-366.

83. WILLCOX (R.R.) M.D.- Treatment problems of gonorrhoea. Bull. Org. Mond. Santé, 1961, 24, 307-314.

84. WILLCOX (R.R.) M.D.- Perspectives in Venereology 1968. Abstracts on Hygiene, Octobre 1969, 948-951.

85. WILSON (G.S.) et MILES (A.A.).- Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. 5th edition, vol. 2, 1755. Edward Arnold (Publishers) LTD, London.

S O M M A I R E

Pages

I - Introduction 1

II - Historique 3

III - Matériel et méthodes d'étude 10

IV - Résultats 26

V - Discussion 50

VI - Conclusion 63